ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



ZWÖLFTER BAND

MIT 41 TEXTFIGUREN UND 44 TAFELN



LEIPZIG UND BERLIN
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1914

Inhalt des zwölften Bandes

Erstes Heft

Ausgegeben am 20. Januar 1914

Zweites Heft

Ausgegeben am 17. Februar 1914

Drittes Heft

Ausgegeben am 24. März 1914

Viertes Heft

Ausgegeben am 26. Mai 1914.

Condriosomi, idiozoma e formazioni periidiozomiche nella spermatogenesi degli Anfibii.

(Ricerche sul Geotriton fuscus.)

Del

Dott. **Tullio Terni**,
assistente.

(Istituto Anatomico di Sassari, diretto dal Prof. G. Levi.)

Con tavole I—VII.

Sommario.

I. Introduzione.

Le ricerche sui condriosomi hanno fatto sì che le conoscenze nostre sul protoplasma e le parti in esso differenziate si siano in grado notevolissimo migliorate ed accresciute negli ultimi anni. Molta citologia (e spesso certamente della più coscenziosa) è stata rielaborata recentemente — avendosi dai ricercatori come obbiettivo lo studio dei condriosomi. E poichè è stata, con indagini sul vivente, irrefutabilmente dimostrata la reale esistenza di questi ultimi e poichè essi esigono, per la loro conservazione, un trattamento dei più riguardosi, la loro messa in evidenza in un larghissimo materiale è stata — oltre che un elemento importantissimo di conoscenza in sè — anche una misura della rigorosità dei metodi adoperati.

E così vediamo taluni Autori accingersi allo studio minuto, analitico dei processi della differenziazione cellulare embrionaria; altri iniziare una revisione dei fenomeni della secrezione cellulare; altri ancora insistere sul complesso determinismo della divisione cellulare; altri infine sullo studio — fecondo di illazioni teoriche — dell'istogenesi dello spermatozoo e sullo studio citologico della maturazione, della fecondazione e della segmentazione dell'uovo. Molti aspetti della vita cellulare sono stati adunque ancora una volta indagati, allo scopo di illustrare la biologia di quegli organuli costantemente presenti e dotati il più delle volte di una caratteristica morfologia.

Per quanto le prime osservazioni di organuli indubbiamente condriosomici siano tutt'altro che recenti [v. Brunn ('84), Zoja ('91), Altmann '94)], pure dobbiamo a Benda ('03) il primo tentativo di ben illustrare e sistematizzare il condrioma. E indiscutibile merito di Benda è stato certamente quello di aver intuito che si trovava di fronte a formazioni di un significato biologico generale indubbio — perchè costantemente presenti nel protoplasma di ogni sorta di cellule (somatiche, sessuali) e in ogni momento della vita cellulare (riposo, divisione, diverse fasi del metabolismo cellulare, ecc.).

Gli Autori che, posteriori a Benda, ne completarono e ne consolidarono le idee fondamentali, non sempre furono consci delle difficoltà che nella definizione e nella identificazione dei condriosomi si incontrano. Svariati sono invero i criterii in base ai quali è possibile con maggiore o minore fondatezza di giudicare della natura mitocondriale di date formazioni.

Al concetto tecnico di Benda (colorabilità — dato un previo e un susseguente particolar trattamento — mediante il cristalvioletto), non si può certamente attribuire un valore assoluto — a nostro avviso — perchè nè specifico, nè costante. Un carattere che ha per lo meno un valore pratico è piuttosto la riluttanza a decolorarsi dei condriosomi, nelle colorazioni estrattive.

La ricerca di un criterio meno empirico di quello tintoriale e più probativo, quale dovrebbe esser quello della natura chimica, non è stata trascurata da alcuni valorosi Autori (Regaud, Fauré-Fremiet, ecc.); non pochi dei quali si sono persuasi che nella costituzione chimica dei condriosomi entrino delle sostanze di natura lipoidica.

Però, allo stato attuale delle nostre conoscenze, non si può senz'altro affermare che una prova perentoria dell'esattezza di tale opinione sia stata fornita. Per quanto nel corso delle mie ricerche io non mi sia rivolto con insistenza a indagini microchimiche, pure non voglio tralasciar di dire come non si possa non essere alquanto scettici sulla portata delle ricerche microchimiche condotte a questo proposito. Infatti, la dimostrazione dei condriosomi ha delle esigenze tecniche particolari, che non sempre coincidono coi metodi necessarii a far rintracciare la natura lipoidica o meno dei condriosomi.

Ad ogni modo è indiscutibile che i condriosomi — in conformità alle vedute microchimiche avanzate — sono conservati spesso dal trattamento con certi sali di cromo e con l'acido osmico.

Veniamo adesso al criterio morfologico di identificazione, basato sulla investigazione della fisonomia dei costituenti il condrioma.

Come è noto, esistono due diversi tipi di formazioni che si è convenuto di chiamare condriosomiche[1]) (Meves): il granulo — mitocondrio — e il filamento — condrioconto; evitiamo di prendere in considerazione i condriomi costituiti apparentemente da ammassi omogenei (per es. degli spermatidi di alcuni Invertebrati) dei quali non conosciamo — forse per insufficenza tecnica — la struttura elementare forse filamentosa, forse granulare.

Per quanto l'apparenza di granuli lasci spesso meno persuaso l'osservatore sulla reale morfologia dei condriosomi, che non l'apparenza di filamenti, poichè, se è possibile che nelle manipolazioni istologiche si

[1]) Nel presente lavoro ci atteniamo alla nomenclatura proposta da Meves nel 1907, piuttosto che alla terminologia ulteriormente dal medesimo Autore ('10a) proposta (plastosomi: plastocondri e plastoconti), la quale è basata sulle osservazioni di Meves sull'ufficio dei condriosomi nella istogenesi.

verifichi una frammentazione di filamenti in granuli (forse così si originano molti dei condriomiti di Benda), non è verosimile l'ipotesi reciproca, cioè una conglutinazione artificiale di granuli in filamenti; pur tuttavia è fuori di dubbio che in un certo materiale, a dir vero limitato (nella gonogenesi dei Mammiferi, ad esempio), esistano dei veri e proprii mitocondri.

Malgrado sia incontestabile la varietà di forma dei condriosomi, per cui non esistono criterii morfologici assoluti per la identificazione loro, si deve però soggiungere che spesso in un determinato gruppo di animali o in un determinato ordine di cellule i condriosomi hanno una fisonomia caratteristica; per cui si può inferire la natura condriosomica di formazioni contenute nel protoplasma di un dato elemento, qualora esse siano simili ad altre appartenenti ad un materiale specificamente o istologicamente vicino — la di cui natura condriosomica sia stata precedentemente assodata.

Risulta adunque, da quello che siamo andati esponendo, che a nessuno dei criterii dei quali si serve abitualmente il citologo per definire la natura di un determinato organo cellulare, si può attribuire un valore assoluto. Importanza molto maggiore possiede, secondo noi, un altro criterio: quello, cioè, basato sullo studio dell'assettamento del condrioma durante le varie fasi della vita cellulare.

È soprattutto il comportamento dei condriosomi durante la mitosi che ha, a nostro giudizio, un'importanza essenziale per l'accertamento della loro essenza. È Benda che ha implicitamente additato questo criterio, quando ha descritto la persistenza e la probabile divisione trasversale dei condriosomi filamentosi nelle mitosi maturative di *Blaps*; dopo di lui, altri hanno dimostrato con maggiore o minore evidenza in oggetti svariati l'esistenza di un tal processo, che serve di base alla teoria fondamentale della continuità dei condriosomi dalla cellula madre alle cellule figlie — applicabile così agli elementi somatici come a quelli sessuali.

Per questi ultimi la dimostrazione della persistenza e della continuità dei condriosomi ha un eccezionale valore, in quanto è stato dimostrato che la cellula sessuale maschile e quella femminile portano nell'atto della fecondazione il materiale condriosomico, che sembra essere direttamente impiegato nella costituzione del condrioma dei primi blastomeri, successivamente delle cellule dell'embrione e infine dell'individuo adulto.

Lo scopo prefissomi nelle mie ricerche è stato principalmente quello di seguire e di analizzare, in ogni momento del ciclo spermatogenetico di un Urodelo — il *Geotriton f.* — degli organuli, dei quali era da presumersi la natura mitocondriale.

All'esposizione dei resultati delle mie osservazioni farò precedere uno sguardo generale ai condriosomi della spermatogenesi, diffondendomi più specialmente su quei dati degli Autori che hanno stretto riferimento colle mie ricerche; la vasta e minuziosa sintesi di Duesberg ('12) mi ha assai agevolato in questo còmpito.

Inoltre ho cercato di portare qualche contributo alla conoscenza di formazioni di significato non poco oscuro, quali sono l'idiozoma e gli organuli ad esso intimamente legati; i criterii che servono alla identificazione di esso ed alla omologizzazione o meno con organuli cellulari descritti con vario nome da altri Autori, saranno esposti criticamente in un apposito capitolo: la trattazione originale ne verrà fatta seguendone il processo evolutivo, di pari passo con quello dei condriosomi.

II. Parte bibliografica.

1. Idiozoma e formazioni periidiozomiche.

Non è fuor di luogo qui riassumere nei suoi tratti fondamentali la storia delle conoscenze via via acquisite sugli organi periidiozomici dei quali intendiamo occuparci; allo scopo di trarre da una tale esposizione dei criterii critici di identificazione o di separazione delle formazioni studiate dai diversi Autori. Ci limiteremo a trattare la questione soprattutto per gli elementi sessuali — accennando solo a quelle ricerche su elementi somatici, le quali ci sembrarono aver portata generale.

Cominciamo col cercar di identificare quello che si è inteso di chiamare per idiozoma, per poi parlare degli organuli che ad esso si annettono.

Come è noto, van Beneden ('83) ha chiamato sfera attrattiva la porzione centrale — in forma di una sfera contenente il centriolo e composta di una zona midollare e di una corticale — dell'aster del fuso di segmentazione di *Ascaris m.* Lo stesso Autore successivamente ('87) credette bene di distinguere nettamente dall'aster protoplasmatico la sfera, la quale sarebbe un organo cellulare permamente, che precede la formazione della figura acromatica. Boveri ('87) chiamò arcoplasma il corpo involgente alla profase i corpuscoli centrali e pensò che le radiazioni dell'aster e il fuso si formassero per il diffondersi della sostanza arcoplasmatica nella cellula.

Mentre Bütschli ('71) aveva chiamato nucleo accessorio o paranucleo (*Nebenkern*) un organo cellulare, incontrato nello studio della spermatogenesi degli Insetti (che verisimilmente corrisponde al residuo della porzione equatoriale delle fibre fusoriali); successivamente La Valette St. George ('86 a, b, '87) usò il medesimo nome per indicare una formazione che egli stesso aveva molto tempo prima ('67) chiamato corpo accessorio (*Nebenkörper*) e che è da riferirsi, secondo Meves ('00), al condrioma. Platner ('89 a; b) si servì, per indicare la parte di citoplasma contigua al centriolo, della denominazione di nucleo accessorio. Hermann ('91) in seguito ha ritenuto che l'ammasso sferoidale di protoplasma differenziato granuloso, nel centro del quale è visibile il centriolo, presente nello spermatocita del *Proteus*, fosse omologabile alle formazioni descritte da van Beneden e da Boveri.

Molti Autori a Hermann posteriori (Meves '94; Moore '93; v. Rath '93; Drüner '95, ecc.) si accordarono con le vedute di Hermann. Rawitz ('96) indicò col nome introdotto da van Beneden la sfera omogenea contenente i centrioli, che esiste nelle cellule seminali di Salamandra.

Erlanger ('96 b, c) ha a sua volta denominato centrodeutoplasma, negli spermatociti di *Blatta g.*, la porzione di protoplasma contigua al centrosoma (= centriolo); il centrodeutoplasma, per quando possa entrare in stretto rapporto col nucleo accessorio, sarebbe da tener tuttavia distinto da quest'ultimo, che proverrebbe dalla porzione equatoriale del residuo fusoriale. Erlanger ('97) non credette giustificata l'opinione di Hermann che l'accumulo di granuli attorno al centriolo dello spermatocita di *Proteus* sia omologabile alla sfera attrattiva e all' arcoplasma — il quale ultimo nome dovrebbe in ogni caso, secondo E., esser mutato per ragioni etimologiche in quello di archiplasma.

Meves ('97 b) riconobbe di aver altrove ('93, '94) anch'egli erroneamente omologizzato colla sfera attrattiva di van Beneden, l'involucro che circonda i corpuscoli centrali delle cellule sessuali in riposo, ma giudicò inesatto il termine di «nucleo accessorio» adoperato da altri per indicare questo organulo — ritenendo [con Erlanger ('97 b, c) e con Calkins ('95)] che Bütschli avesse chiamato con un tal nome una formazione derivante dal residuo fusoriale nella quale non erano contenuti i corpuscoli centrali. Meves ritenne improprio anche il nome coniato da Erlanger ed introdusse infine, per indicare l'involucro specifico che circonda i corpuscoli centrali delle cellule sessuali maschili in riposo, il nome di idiozoma — il qual termine dovrebbe, secondo M., servire ad indicare anche il cosiddetto «nucleo vitellino». Più tardi — come ho

rammentato sopra — MEVES ('00) volle identificare il nucleo accessorio di LA VALETTE ST. GEORGE con l'ammasso dei mitocondri (condrioma): il quale purtuttavia può (spermatociti) inglobare entro a sè l'idiozoma.

Non vogliamo qui addentrarci oltre nella selva dei dati contradditorii e talvolta disordinati che spesso sono stati riferiti da diversi Autori e che hanno portato ad omologizzare erroneamente col *Nebenkern*, inteso in questo o in quel senso, formazioni diverse — anche perchè un tal còmpito è stato tentato da altri Autori, come CALKINS ('95), HENNEGUY ('96), ERLANGER ('96, '97), MEVES ('97b, '00) e BENDA ('03). Conveniamo pertanto di denominare «idiozoma»[1]) quell'ammasso intracitoplasmatico sferoidale, che si trova situato in prossimità di un polo del nucleo nelle cellule sessuali (e talvolta nelle somatiche) in riposo e nel quale sono contenuti (o si delineeranno, all'approssimarsi della mitosi) i centrioli[2]) [vedi anche TERNI ('11, pagg. 55 e 71)].

* * *

Accingiamoci ora a dare uno sguardo generale alle nozioni che possediamo su quelle formazioni, che si possono chiamare periidiozomiche o — seguendo PERRONCITO — dittosomiche, quando si convenga di riferirsi con quest'ultima denominazione piuttosto alla pura morfologia (aspetto simile agli organuli di PERRONCITO) che non al significato genetico delle formazioni stesse[3]).

Da molti anni vanno descrivendosi delle formazioni che contraggono uno stretto rapporto coll'idiozoma e che anzi sono state spesso considerate come parti costituenti ed integranti dell'idiozoma stesso (o, come è stato

---

[1]) Intendiamo di indicare con questo nome anche l'organo ad esso corrispondente che esiste in talune cellule somatiche in riposo — nonostante la riserva avanzata da MEVES a tal riguardo ('99, pag. 480). In due suoi lavori più recenti ('10, '12) MEVES chiama «centroteca» l'involucro che circonda i corpuscoli centrali dei leucociti di larve di *Salamandra*.

[2]) A proposito dell'idiozoma dello spermatide, vedi la Nota [1]) a pag. 60.

[3]) Infatti l'etimologia del termine «dittosomo« implicherebbe il concetto di una formazione reticolare, colla quale questi organuli dovrebbero essere in rapporto genetico. Per quanto in molti casi non sia stato dimostrato un tale rapporto, ci serviamo tuttavia di questa denominazione, — tanto più che PERRONCITO stesso ('10, pag. 25—26) si mostra convinto della omologia dei suoi dittosomi colla «maggior parte» degli pseudocromosomi degli Autori. Ci sembra pertanto lecito di denominare «dittosomici» quegli organuli che, descritti in materiale svariatissimo con nomi diversi, sono riportabili alle formazioni studiate minutamente (e con particolare successo nella *Paludina*) da PERRONCITO.

a volta a volta chiamato, nucleo accessorio, sfera centrale, sfera attrattiva, ecc.).

Il primo Autore che ha osservato organuli con tutta probabilità identificabili coi dittosomi è stato Platner. Questi ha descritto ('89) negli spermatociti di alcuni Gasteropodi lo spezzarsi profasico del suo nucleo accessorio in un numero fisso di elementi (6 per l'*Helix p.*, 8 pel *Limax a.*) bastonciniformi (*Nebenkernstäbe*) i quali, dopo essersi divisi longitudinalmente, si orientano in due gruppi attorno ai corpuscoli polari del fuso.

Hermann ('91) ha per primo nei Vertebrati (spermatociti di *Proteus a.*) descritto delle formazioni, che chiamò «anse arcoplasmatiche»: 16—20 filamenti arcuati o ad S, giacenti attorno al corpuscolo centrale e contenuti nell'interno di un ammasso sferoidale (arcoplasma), che, secondo H., è omologabile agli organuli di v. Beneden e di Boveri [e che invece corrisponde verosimilmente al nucleo accessorio di La Valette St. George (= corpo mitocondriale di Meves = idiozoma + condriosomi)]. Hermann ritenne le sue anse archiplasmatiche identiche ai bastoncini paranucleari di Platner, dei quali confermò l'esistenza negli spermatociti dell'*Helix*. Metzner ('94) osservò nelle cellule seminali di *Salamandra* delle anse simili alle archiplasmatiche di Hermann e credette che esse partecipassero alla trasformazione nell'idiozoma (archiplasma) nel fuso acromatico.

Bolles Lee ('95, '96) ha studiato negli spermatociti dell'*Helix* delle formazioni identiche a quelle di Platner; ma, avendo creduto di assistere alla degenerazione del nucleo accessorio, ne negava il comportamento tattico descritto da Platner e la identità colla sfera attrattiva. Rawitz ('96) ha descritto il suddividersi profasico della sfera attrattiva in 6—12 sferule, le quali invece sono forse da riportarsi a formazioni periidiozomiche: di queste zolle, due si trasformerebbero nei corpuscoli polari del fuso, le altre verrebbero impiegate nell'incremento in grossezza del fuso centrale (il quale si abbozzerebbe dalla zona di protoplasma concentricamente differenziato attorno alla sfera).

Meves ('96) ha illustrato negli spermatociti del primo ordine di *Salamandra* delle formazioni bastonciniformi o filamentose in vario numero e irregolarmente distribuite in immediata vicinanza della periferia dell'idiozoma, che talvolta attraversano. Meves le ritenne analoghe alle formazioni di Platner e di Hermann, per quanto da queste differissero per la loro incostanza e variabilità di numero; queste due ultime peculiarità si spiegherebbero, secondo M., qualora con R. Hertwig ('92) e con M. Heidenhain ('94) si ammettesse la natura rudimentale (cromo-

somi rudimentali) degli organuli di Platner e di Hermann. Henneguy ('96) descrisse questi ultimi nel *Helix* e li considerò come filamenti «cinoplasmatici», nel senso di Strasburger, cioè come organuli ai quali è subordinata la formazione della figura acromatica nella citodieresi.

Erlanger ('96 d) ha probabilmente veduto delle formazioni periidiozomiche, nei granuli fra loro anastomizzati che ha descritto nel nucleo accessorio delle cellule testicolari del Lombrico.

In un lavoro ulteriore, Hermann ('97) descrive nella *Salamandra* le stesse formazioni già da lui osservate nel *Proteus*; assiste nello spermatocita di *Salamandra* ad una tattica profasica delle anse archiplasmatiche ordinantisi in due gruppi pericentriolari — e con ciò conferma le sue vedute sull'omologia dei suoi organuli con quelli di Platner. All'incontro Prenant ('98) ritorna sull'argomento del paranucleo dei Gasteropodi [del quale si era occupato anche precedentemente ('88)] per combattere i risultati di Platner e di Bolles Lee.

Murray ('98) ha saputo per primo identificare coll'idiozoma di Meves (sfera attrattiva sec. M.) il *Nebenkern* descritto da Platner nei Molluschi, dimostrando l'esistenza dei due centrioli nell'interno di esso; considera i bastoncini di Platner non come organi indipendenti, sibbene come sezioni ottiche della membrana involgente la sfera, ripiegata fortemente. Probabilmente però, i segmenti i quali — secondo Murray — si originerebbero per frammentazione dell'idiozoma, sono invece da ricondursi a formazioni periidiozomiche. Benda ('99) ha messo in evidenza negli elementi seminali di alcuni Gasteropodi delle formazioni distinte dai granuli mitocondriali: dei gruppi di filamenti, cioè, che riconduce a quelli di Platner e di Hermann.

Heidenhain ('00) studiando gli spermatociti in accrescimento di *Proteus a.*, ebbe agio di rilevare molte particolarità di struttura, e cercò di interpretarle alla luce della allora recente dottrina di Benda e di Meves sui mitocondri. Accanto a granuli (mitocondri) accumulati attorno alla sfera, H. ha osservato in taluni spermatociti dei filamenti ansiformi situati a distanza dalla sfera e delle formazioni spirematiche di svariatissimo aspetto che involgono strettamente la sfera. H. volle ricondurre ai condriomiti (= condrioconti) di Benda-Meves i filamenti ansiformi suddetti; assegnò ad essi il nome di «pseudocromosomi» e ne stabilì la omologia colle anse archiplasmatiche di Hermann. Denominò poi le formazioni in intimo rapporto colla sfera «capsule centrali» e le ritenne omologabili ai centroformi di Ballowitz ('00).

Heidenhain suppose che le capsule centrali risultassero formate da un allineamento di mitocondri, ma non si pronunciò sulla possibile

loro omologia colle membrane involgenti la sfera descritte da lui stesso precedentemente ('92), da Drüner ('94) e infine da Meves ('94, '96). La varietà morfologica delle capsule centrali è tale, che dall'aspetto di una membrana sforacchiata (sferoidale o, più spesso, pieghettata ed estroflessa) si arriva a quello di formazioni a grata e fin anco di filamenti individualizzati qua e là anastomizzati, dei quali è notevole l'analogia cogli pseudocromosomi; quando si dia quest'ultimo caso, i filamenti (molto simili allora ai bastoncini paranucleari di Platner) formano talvolta un apparato che sta al posto della sfera. L'idiozoma — quando sia apprezzabile — è contenuto nell' interno della capsula, ma si serba da essa del tutto indipendente. Non può negarsi — secondo H. — un rapporto genetico fra la capsula centrale e gli pseudocromosomi; insoluto resta solo il problema se siano i condriomiti (= pseudocromosomi) che si trasformano nella capsula oppure se sia la capsula che si scinde in condriomiti.

Nella complessa descrizione che Eisen ('00) fornisce della sfera centrale contenuta nello spermatocita di *Batrachoseps a.*, l'A. accenna a formazioni a grata. le quali sono forse da ricondursi ad organuli dittosomici anastomizzati. Prowazek ('02) ha osservato degli elementi filiformi che delimitano l'idiozoma degli spermatogoni di *Helix*, i quali si disintegrano nella metafase. Benda ('03) si è opposto recisamente alla omologia supposta da Heidenhain[1]) fra gli psendocromosomi del *Proteus* (e relativamente i bastoncini di Platner e le anse di Hermann) e i suoi mitocondri. Ancel ('02, '03) suppose che i bastoncini di Platner si formino nell'*Helix* a spese di formazioni paragonabili ai filamenti ergastoplasmatici [protoplasma superiore di Prenant ('99)]: i bastoncini scompaiono alla profase, senza prender parte alla formazione della figura acromatica.

P. Bouin ('05) descrive e raffigura negli spermatociti di *Scolopendra* degli organuli ergastoplasmatici, alcuni dei quali verisimilmente periidiozomici (vedi le sue figg. 6, 8 e 12); l'A. li mette accanto — insieme ad altre formazioni da lui precedentemente osservate nelle cellule madri del sacco embrionario delle Liliacee ('98) e nell'ovocita di *Asterina g.* ('98) — agli pseudocromosomi di Heidenhain e di altri.

Sjöval ('06), studiando la spermatogenesi del Topo e della Cavia col suo particolar metodo di ricerca, ha messo in evidenza, alla periferia

---

[1]) Heidenhain ('12, citato da Berenberg-Gossler) si è recentemente ricreduto a proposito di codesta sua supposizione ed ha ammesso, seguendo Perroncito ('10), che le formazioni periidiozomiche da lui studiate nel *Proteus* corrispondano realmente all'Apparato di Golgi.

dell'idiozoma degli spermatogoni e degli spermatociti e al posto del residuo idiozomico dello spermatide, una formazione a mo'di capsula intensamente colorata, la quale si lascia talvolta risolvere in unità filamentose. S. crede che quest'organo cellulare sia riconducibile coll'apparato reticolare interno di Golgi; la formazione capsuliforme che rappresenta il residuo idiozomico dello spermatide non prenderebbe parte alla spermatistogenesi.

Popopp ('07) illustra negli spermatociti e negli spermatidi di *Helix p.* due sorte di formazioni cromidiali (nel senso di Goldschmidt) che si originerebbero dal nucleo durante il periodo auxocitario: delle formazioni evidentemente condriosomiche (*dünne Chromidialstränge*) ed altre — che l'A. associa agli pseudocromosomi e ai bastoncini paranucleari — dittosomiche, le quali sono intimamente addossate all'idiozoma ed hanno l'aspetto di grossi filamenti arcuati o ad S. Nello spermatide questi cromidii sono presenti in numero più limitato: fatto questo dovuto secondo Popoff a che nelle divisioni di maturazione essi vengono ripartiti, senza che si moltiplichino, alle cellule figlie. Durante la trasformazione in spermatozoo, lo spermatide si libererebbe di quei cromidii che non vengono utilizzati nel processo spermatistogenetico.

Duesberg ('07), studiando l'apparato mitocondriale nella spermatogenesi del Ratto, raffigura nell'auxocita un'idiozoma che possiede un contorno fortemente colorato (forse per la presenza di organuli periidiozomici).

Fauré-Fremiet ('10) descrive negli spermatociti di *Helix p.* e di *Arion r.* chiare formazioni pseudocromosomiche (dittosomiche) che assumono spesso la forma di piccole calotte sferiche delimitanti nel loro interno una sfera (idiozoma?) — formazioni le quali proverrebbero secondo l'A. da trasformazione di condriosomi preesistenti. Fauré-Fremiet descrive e raffigura una mitosi spermatocitica di *Helix*, nella quale gli pseudocromosomi sono disposti radialmente attorno ai poli del fuso acromatico. Inoltre l'A. ha potuto osservare nello spermatide di *Arion* delle formazioni che a me sembrano nettamente dittosomiche, per le quali egli avanza la supposizione che non prendano direttamente parte alla istogenesi dello spermatozoo.

Perroncito ('10) ha avuto il merito di chiarire il significato delle formazioni periidiozomiche delle cellule spermatiche della *Paludina v.*, riconducendole all'apparato reticolare interno descritto da Golgi e dai suoi allievi in un gran numero di elementi cellulari. Come è noto, P. ha descritto il processo della dittocinesi, particolarmente evidente nel periodo spermatocitogenetico della serie oligopirene della

Paludina; processo per mezzo del quale l'apparato di Golgi si frammenta in segmenti (dittosomi) i quali si comportano tatticamente nella mitosi, distribuendosi equamente alle cellule figlie; in queste ultime i dittosomi si ricostituiscono in un reticolo endocellulare. Perroncito considera come dittosomi gran parte dei cosiddetti «pseudocromosomi» degli Autori; per modo che implicitamente ne riconosce la natura di articoli dell'apparato di Golgi.

Studiando la spermatogenesi del *Geotriton*, io stesso ('11) mi sono occupato di formazioni periidiozomiche dello spermatocita, descrivendo degli ispessimenti della membrana involgente la sfera centrale, che omologavo agli organuli di Platner e di Hermann. Nel corso di ricerche ulteriori ho creduto di modificare le mie vedute sulla morfologia di tali formazioni, avendo avuto agio di studiare con una tecnica più congrua gli organuli dittosomici presenti nella spermatogenesi del *Geotriton*; i resultati di questo studio saranno esposti nella parte originale della presente memoria.

Weigl ('12) ha dimostrato che un organulo da lui ritenuto l'omologo dell' apparato di Golgi coopera alla costituzione dello spermatozoo di *Helix*, e che nello spermatozoo adulto (già mobile) di Cavia, esiste, a livello del collo, una formazione che rappresenta, secondo l'A., l'apparecchio reticolare.

Hirschler ('13) ha recentemente messo in evidenza nella spermatogenesi dell'*Ascaris l.* degli organuli foggiati ad anello completo od incompleto, i quali sono presenti negli spermatogoni e negli spermatociti; permangono nelle mitosi ripartendosi indivisi fra le cellule figlie e, infine, sono nello spermatide solo parzialmente eliminati, mentre alcuni di essi sono rintracciabili nella porzione posteriore dello spermatozoo adulto. Queste formazioni, le quali mai si organizzano in un sistema che abbia eventualmente rapporto cogli organi centrali, son ritenute da Hirschler come rappresentanti dell' apparato reticolare interno[1]).

---

[1]) Questo capitolo del mio lavoro presente era interamente compilato, quando è uscita l'accurata memoria di Kuschakewitsch ('13). Egli descrive in un Prosobranchio — il *Vermetus* — delle nette formazioni periidiozomiche presenti negli spermatogoni e negli spermatociti della serie atipica; in questi ultimi i dittosomi sono raramente riuniti a formare una rete situata alla periferia dell'idiozoma. Nel periodo di accrescimento i filamenti periidiozomici si emancipano nel protoplasma, assumono la forma di anelli e quindi perdono la loro colorabilità in modo da non essere ulteriormente seguibili.

L'A. chiama «sferosomi» le nostre formazioni periidiozomiche e ne riassume la storia; propone altresì di denominare «statosfera» l'insieme costituito dal centriolo + idiozoma + sferosomi (relativamente «sferoteca»).

Berenberg-Gossler ('12) illustra diffusamente, nei gonociti di embrioni di Pollo e di Anitra di circa 3 giorni, degli organi cellulari molto simili all'apparato di Golgi, i quali contengono nel loro interno i centrioli, pur non essendo questi ultimi — a detta dell'A. — involti da un idiozoma. Levi ('12) ha descritto delle nette formazioni periidiozomiche, di natura certamente dittosomica, nei gonociti di larve di *Bufo* di 11—12 mm.

Non escludo che i *Saftkanäle* descritti da E. Holmgren ('00) al posto del nucleo vitellino degli oociti di taluni Mammiferi corrispondano, almeno in parte, a formazioni periidiozomiche.

Winiwarter ('00) ha studiato nei giovani ovociti di donna dei bastoncini (*«spicules»*) disposti radialmente o tangenzialmente alla periferia del nucleo vitellino — del quale crede ancora indimostrata la omologia colla sfera centrale (idiozoma). Come è noto però Gurwitsch ('00) ha dimostrato perentoriamente l'esistenza dei centrioli nel nucleo vitellino oogoniale dei mammiferi — cosicchè, la natura idiozomica di quest'ultimo non è più da mettersi in dubbio; durante la mitosi, secondo G., da questo organulo si formerebbe l'intera figura acromatica.

Byrnes ('00) descrive e raffigura nell'uovo di *Limax* una sfera centrale, contenente l'abbozzo del 2° fuso di maturazione, la quale è circondata alla periferia da una serie di ispessimenti granulari, in corrispondenza dei quali terminerebbero, secondo l'A., i raggi dell'antico aster; non sono alieno dal ritenere che si tratti invece di organuli periidiozomici metamorfosatisi nel processo profasico. Anche alcune delle formazioni illustrate da Henschen ('03) nelle uova di *Helix p.* e da lui interpretate come provenienti dalla vescicola germinativa, sono evidentemente di natura dittosomica.

D'Holländer ('02) riferisce su degli pseudocromosomi (evidentemente dittosomi) presenti nei giovani ovociti di *Parus m.*, foggiati a tra-

---

Nello stesso fascicolo dell' *Archiv für Zellforschung*, dal quale ho preso visione del lavoro di Kuschakewitsch, è comparso un lavoro riassuntivo e sintetico di Nusbaum ('13), specialmente costrutto sulla base delle ricerche condotte dai suoi allievi e — in particolar modo — delle ricerche di Weigl ('12). Nusbaum — che è contrario alla teoria cromidiale — sostiene validamente che apparato di Golgi e mitocondri rappresentano due componenti cellulari ben distinti; riconosce l'omologia del reticolo endocellulare delle cellule somatiche cogli pseudocromosomi, colle anse archiplasmatiche e colle capsule centrali delle cellule sessuali. L'A. sostiene con Weigl che l'apparato reticolare interno rappresenta un organulo costante di ogni cellula vivente e funzionante dei Metazoi.

vate irregolari, spinose, spesso anastomizzate, situati nelle parti più periferiche della cosiddetta massa vitellogena — nell'interno del quale l'A. ha riconosciuto il nucleo vitellino provvisto del corpuscolo centrale. Ad organuli dittosomici sono da riportarsi gli pseudocromosomi veduti da van der Stricht ('02 a, '04) nei giovani ovociti dei Chirotteri. Secondo l'A. essi tendono a ramificarsi e ad anastomizzarsi e a formare un reticolo o capsula fenestrata; altre volte lo pseudonucleo (per dirla con van der Stricht) è formato da un filamento raggomitolato. Col progredire dell'accrescimento dell'ovocita, gli pseudocromosomi si spezzetterebbero e si sgretolerebbero in granuli (mitocondri) che si diffondono nel citoplasma, per partecipare forse alla formazione del vitello.

[Per gli pseudocromosomi da D'Holländer ('04) descritti negli oogoni degli Uccelli, credo si debba ritenere trattarsi di organi condriosomici piuttosto che dittosomici; lo stesso sia detto per gli pseudocromosomi di De Somer ('05) e di Loyez ('06).]

Sjövall ('06) ha osservato nei giovanissimi ovociti di Cavia degli organi situati alla periferia del nucleo vitellino, in tutto simili a quelli dallo stesso A. descritti negli spermatociti e negli spermatidi di Topo e di Cavia: in forma cioè di una capsula, spesso risolvibile otticamente in elementi bastonciniformi. Queste capsule, che S. omologizza con l'Apparato di Golgi, durante l'accrescimento dell'ovocita si disintegrerebbero in segmenti che tendono a diffondersi nel citoplasma, a portarsi verso la periferia cellulare e a sgretolarvisi; in ultimo i frammenti non sono più colorabili. Contrariamente a van der Stricht, S. esclude qualunque rapporto fra i suoi organuli e i condriosomi.

Veidowsky ('07) illustra nell'ovocita di un Verme delle formazioni a canestro circondanti i centrioli, le quali a un certo momento del periodo di crescita si formano a spese delle «radiazioni centroplasmatiche» preesistenti: queste ultime — in una ai centrioli a cui fanno capo — corrispondono al «centroplasma» descritto in un altro Verme da Veidowsky e Mracek ('03). Popoff ('07), studiando l'ovocita in accrescimento di *Paludina*, interpreta come cromidii degli organuli i quali, invece di essere — come crede l'A. — condriosomici, sono da ritenersi con tutta probabilità dittosomici: la fig. 46 della sua Tav. VI mi sembra assai convincente a tale riguardo.

Loyez ('09) ha osservato che, nell'ovocita in accrescimento di *Pyrrhocoris a.*, il nucleo vitellino possiede un contorno inegualmente spesso, che è forse l'esponente di una formazione membranosa o capsuliforme, assai simile a quella descritta da Heidenhain nel *Proteus*.

Jörgensen ('10) illustra nell'ovocita in accrescimento di *Proteus a.* una complessa formazione paragonabile al nucleo vitellino, nella costituzione della quale intervengono — oltre a dei condriosomi ereditati dagli ovogoni e a degli ammassi di grasso — degli organuli filamentosi ansiformi che l'A. ritiene provenienti dal nucleo, cioè di natura cromidiale. A me sembra che questi ultimi costituenti del nucleo vitellino debbano rientrare nel gruppo dei dittosomi; specialmente la fig. 7 della tav. 44 [riprodotta anche da Goldschmidt ('09) e da Buchner ('10)] e le fig. 2, 2 *a* della tav. 35 del lavoro di J. appoggiano validamente la mia supposizione. Jörgensen ha inoltre veduto il corpuscolo centrale nell'interno del suo nucleo vitellino. Levi ('12) illustra negli ovociti di *Geotriton f.* all'inizio del periodo di accrescimento, degli organi dittosomici in intimo rapporto di contiguità coll'idiozoma. Weigl ('12) parla di un apparecchio di Golgi presente nell'ovocita di *Helix*, costituito da segmenti che si diffondono nel corso del periodo di accrescimento a tutto l'ooplasma.

Hirschler ('13) ha dimostrato nell'ovocita di *Ascaris l.* delle formazioni arcuate, identiche a quelle che ha descritto nella spermatogenesi dello stesso animale (vedi sopra): rappresenterebbero l'apparecchio di Golgi e sarebbero un organo permanente, che aumenta in grandezza coll'accrescimento dell'ovocita.

Per quel che riguarda lo stretto rapporto topografico esistente fra apparecchio reticolare interno (relativamente formazioni dittosomiche) e apparato centrale nelle cellule somatiche, si può dire che — eccezion fatta per le cellule nervose ed alcuni altri elementi, come le emazie [Sinigaglia ('10)], ecc. (l'identità dell'apparato reticolare dei quali elementi con quello a sede verosimilmente periidiozomica delle altre cellule non è per anco dimostrata) — il rapporto suddetto è sufficientemente provato.

Ballowitz ('08) lo ha dimostrato per i suoi centroformi dell'epitelio corneale del Descemet e lo ha confermato Zawarzin ('09) per gli stessi elementi; lo ha riconosciuto Brugnatelli ('08) nell'epitelio dei canalicoli renali, Verson ('08) nelle cellule giganti tubercolari, Deineka ('12) e Barinetti ('12) per lo strato profondo dell'epitelio anteriore corneale; quest'ultimo Autore ('12) infine — in modo particolarmente chiaro e convincente — nelle cellule cartilaginee dell'embrione di Pollo.

Stabilito un tal rapporto topografico fra apparato centrale ed una certa categoria di apparati di Golgi, inteso nel senso che questi ultimi contengono nel loro interno i centrioli (involti spesso da un involucro idiozomico); si viene implicitamente ad ammettere la identificazione del

tipo di apparato reticolare non diffuso a tutta la cellula, cogli organuli periidiozomici delle cellule sessuali, su cui abbiamo sopra riferito.

Unica voce discordante è quella di PILAT ('12) il quale, nelle cellule midollari del corpo surrenale del Riccio crede di aver dimostrato che l'apparecchio reticolare interno è situato nell'interno della sfera centrale — la quale sarebbe a sua volta circondata alla periferia da una formazione ad anello o a rete, da ricondursi, secondo l'A., alla capsula centrale di HEIDENHAIN. Siccome io credo che quest'ultima sia una vera e propria formazione dittosomica (= apparato di GOLGI), per modo che dovrebbe ammettersi l'ipotesi poco verosimile dell'esistenza di due apparati reticolari l'uno contenuto nell'altro, stimo inesatta l'interpretazione di PILAT, che è frutto di sintesi costruita sull'osservazione di preparati diversi e non della dimostrazione simultanea nella stessa cellula dei due organuli pericentriolari. Io ritengo adunque che: o apparato reticolare e capsula centrale di PILAT sono una stessa entità cellulare che appare diversamente con tecnica diversa; oppure si tratta di formazioni indipendenti, ma, in tal caso, la presunta capsula centrale di PILAT è da riferirsi ad una incompleta messa in evidenza di condriosomi e non da considerarsi come una capsula centrale nel senso di HEIDENHAIN, che dai condriosomi deve esser tenuta affatto distinta.

Desidero far rilevare che alcuni degli Apparati di GOLGI messi in evidenza da PILAT (vedi ad es. la fig. 5) sono costituiti da filamenti foggiati ad ansa o ad S, indipendenti l'uno dall'altro, cioè non anastomizzati fra loro; lo stesso si dica anche per talune delle figure di BALLOWITZ ('00).

Da questa esposizione di nomi e di fatti, risulta che in un materiale svariatissimo prevalentemente gonocitico, esistono delle formazioni periidiozomiche (dittosomiche — come abbiamo convenuto di chiamarle), in forma: ora di filamenti arcuati indipendenti (quali sono quelle descritte da PLATNER e da HERMANN); ora di complessi e variabili organuli capsuliformi (HEIDENHAIN); ora infine foggiate a reticolo (come è quello illustrato da PERRONCITO, ecc.).

Nello sguardo che abbiamo gettato allo sviluppo delle nostre conoscenze sull'argomento relativo all'idiozoma e alle formazioni dittosomiche, più che di esaurirlo, abbiamo avuto per scopo di orientarci in esso; per modo che ci fosse possibile di ottenere nell'esposizione dei risultati delle nostre ricerche un riferimento appropriato a fatti già noti, per desumere nelle conclusioni delle nozioni di indole eventualmente generale.

2. I condriosomi nella spermatogenesi.

a) I condriosomi degli spermatogoni.

Benda ('98, '99, '03) ha per primo descritto delle formazioni condriosomiche granulari spesso radialmente ordinate attorno all'archiplasma (idiozoma) negli spermatogoni di alcuni Mammiferi (Topo, Cane, Uomo), Sauropsidi e Anfibii (*Bombinator*, *Salamandra*), della *Paludina v.* e della *Blaps*; ulteriormente ha studiato i condriosomi spermatogoniali di alcuni bassi Mammiferi ('06).

Meves ('00) ha osservato dei mitocondri negli spermatogoni della *Paludina*; Prowazek ('02) e Holmgren ('02) negli spermatogoni di due Coleotteri. Successivamente gli Schreiner ('05, '08) hanno veduto negli spermatogoni in riposo di alcuni Missinoidi un corpo mitocondriale formato da finissime granulazioni, il quale durante la mitosi si divide in due parti spesso ineguali, ognuna delle quali passa ad una delle cellule figlie. Bouin ('05) ha illustrato negli spermatogoni di *Scolopendra* delle formazioni granulari o brevemente filamentose che non scompaiono nella mitosi.

I granuli evidentemente condriosomici che Wassilieff ('07) ha osservato in scarso numero negli spermatogoni di *Blatta g.*, sono ritenuti dall'A. come provenienti dal nucleo; anche Buchner ('09) descrive dei granuli condriosomici esistenti negli spermatogoni di un Acridio, l'*Oedipoda*.

Giglio-Tos e Granata ('08) accennano ai condriosomi degli spermatogoni del *Pamphagus m.*: negli spermatogoni in riposo esistono, secondo gli Aa., dei mitocondri sempre raggruppati in una zona del citoplasma corrispondente alla sede del residuo fusoriale. La fig. 2 della memoria di Giglio-Tos e Granata rappresenta un caratteristico momento dell'anafase spermatogoniale, nel quale i mitocondri si sono già divisi in due ammassi perifusoriali (ognuno per ciascuna cellula figlia), quando ancora la citodieresi non si è effettuata.

Otte ('07) ha osservato negli spermatogoni in riposo di *Locusta v.* dei granuli condriosomici; Schäfer ('07) ne ha rilevato la persistenza durante le mitosi spermatogoniali del *Dytiscus*. Wilke ('07) ha illustrato dei condrioconti presenti negli spermatogoni dell' *Hydrometra l.*, che si dividono trasversalmente durante la cinesi; recentemente ('13) lo stesso Autore descrive i condriosomi spermatogoniali di un' altra *Hydrometra*. Meves ('07a) accenna a mitocondri localizzati ad un polo del nucleo negli spermatogoni dell'Ape.

Secondo Champy ('09) i condriosomi avrebbero negli spermatogoni del *Bombinator* la forma di granuli, suscettibili di aggrupparsi in catenelle,

di subire l'azione orientante della sfera e di fondersi talora in filamenti sottili; codesti condriosomi si originerebbero dal nucleo. v. Baehr ('09) ha osservato negli spermatogoni di un Rincote — l'*Aphis s.* — dei granuli mitocondriali che nelle mitosi passano in parti eguali alle cellule figlie. Le ricerche di Gérard ('09) sulla spermatogenesi dello *Stenobothrus b.* hanno dimostrato che i mitocondri presenti nello spermatogonio in riposo si organizzano durante le cinesi somatiche in un fascio di condrioconti che vien diviso per metà dallo strozzamento equatoriale della membrana cellulare.

Fauré-Fremiet ('10 b) accenna alla presenza di numerosi mitocondri negli spermatogoni di *Pyrrhocoris a.* Le ricerche di Regaud ('10) e di Leplat ('10) ci hanno fatto conoscere l'esistenza di condriosomi granulari contenuti negli spermatogoni di taluni Mammiferi; Duesberg ('10c) descrive negli spermatogoni in riposo di Cavia dei mitocondri, i quali, nella mitosi, si dispongono attorno alla figura acromatica e spesso si allungano in brevi bastoncini diretti parallelamente all'asse del fuso centrale.

Dei condriosomi nettamente filamentosi, dei veri e propri condrioconti, ha veduto invece Dingler ('10) nelle mitosi spermatogoniali del *Dicrocoelium l.* Secondo le osservazioni di Duesberg ('10c) poi, che dissentono da quelle di Wassilieff ('07), gli spermatogoni in riposo di *Blatta g.* posseggono dei condrioconti che nelle mitosi si dividono — dopo essersi riuniti in fascio — trasversalmente.

Nella stessa memoria Duesberg — in contrasto colle ricerche di Buchner ('09) — riferisce di aver riscontrato negli spermatogoni di *Gryllotalpa* dei condriosomi filamentosi, i quali si allineano durante la mitosi all'intorno del fuso acromatico, per subire alla telofase una divisione trasversale (la quale — a giudicare dalle figure I e J di Duesberg — non sarebbe però rigorosa). Nel medesimo lavoro su citato, Duesberg si occupa della struttura degli spermatogoni del *Triton c.*; negli spermatogoni stessi — in disaccordo colle osservazioni di Benda [vedi figg. 7 *A* e *B* di Waldeyer ('06)] — non ha trovato dei granuli, bensì dei fini filamenti condriosomici, i quali nell'elemento in riposo sono sparsi per il citoplasma, nella profase si riuniscono in gruppo attorno ai centrioli. Nella metafase, questi condrioconti tendono a disporsi ai poli del fuso, tra le radiazioni dell'aster; nella anafase i condrioconti vengono a situarsi di preferenza fra i due nuovi nuclei figli, parallelamente e al difuori delle fibre del fuso in regressione; la separazione dei citoplasmi delle cellule figlie effettua la divisione trasversale di alcuni dei condrioconti, mentre alcuni di questi ultimi passano indivisi in una delle

cellule figlie. Duesberg ('10 c, '12) propende a ritenere che i mitocondri osservati da Benda negli spermatogoni di *Salamandra* siano il prodotto di una frammentazione artificiale di condrioconti.

Secondo le ricerche di Jordan, non esisterebbero condriosomi negli spermatogoni di *Opossum* ('11); dei mitocondri sarebbero invece presenti nelle divisioni spermatogoniali del Pipistrello ('12), ove deriverebbero da frammenti di cromosomi. Duesberg ('12, pag. 638) fa cenno di sue osservazioni, secondo le quali gli spermatogoni dell'*Ascaris* avrebbero dei condriosomi granulari; in un lavoro recente Hirschler ('13) ha dimostrato egualmente dei mitocondri negli spermatogoni in riposo e in mitosi di *Ascaris l.* Winiwarter ('12) illustra nelle sue figg. 7 e 13 dei mitocondri presenti negli spermatogoni dell' uomo. Recentemente Sokolow ('13) ha riconosciuto nello Scorpione la presenza di condriosomi granulari negli spermatogoni in riposo; nelle mitosi spermatogoniali invece esistono dei brevi condrioconti che si ripartiscono fra le due cellule figlie.

In un larghissimo materiale è stata adunque riconosciuta l'esistenza di formazioni condriosomiche negli spermatogoni; questo riconoscimento è prezioso per la dottrina generale dei condriosomi, in quanto che sulla sua base si può costruire larga parte dell' ipotesi della continuità dei condriosomi attraverso le varie generazioni.

Il fatto che numerosi Autori [Henneguy ('04), Depdolla ('05), Zweiger ('07), Davis ('08), Morse ('09), Montgomery ('11) ecc.] non hanno descritto condriosomi negli spermatogoni, ma solo a partire dal periodo spermatocitico — suppongo che sia dovuto il più delle volte ad insufficenza tecnica: come anche le mie ricerche mi hanno dimostrato, si incontra infatti una notevole difficoltà nella messa in evidenza dei condriosomi negli spermatogoni.

Del resto anche taluni degli Autori decisamente cromidialisti, secondo i quali la fuoriuscita del materiale condriosomico dal nucleo si effettuerebbe sovrattutto nel periodo di accrescimento dello spermatocita, descrivono condriosomi negli spermatogoni [vedi ad esempio Wassilieff ('07)].

Riteniamo che — eccezion fatta forse pei Mammiferi, la gonogenesi dei quali sembra essere contrassegnata da condriosomi granulari e per i Rettili e gli Uccelli, non ancora sotto questo punto di vista abbastanza studiati — sia assai diffusa la forma filamentosa dei condriosomi spermatogoniali e che le forme granulari siano spesso il frutto di una fissa-

zione inadatta delle entità condriosomiche [vedi ad esempio Duesberg ('10c) contro Benda, Duesberg ('10c) contro Wassilieff].

Il comportamento dei condriosomi nelle mitosi spermatogoniali non è stato ancora investigato con molto successo su larga scala: parlano ad ogni modo per una divisione trasversale anafasica dei condrioconti gli studii di Duesberg ('10) sulla *Blatta g.* — mentre meno probative in questo senso sono le osservazioni di Wilke ('07), di Giglio-Tos e Granata ('08), di Gérard ('09) e di Duesberg ('10) sulla *Gryllotalpa.*

b) I condriosomi nell'accrescimento dello spermatocita e nelle divisioni di maturazione.

Per quanto le prime osservazioni di formazioni condriosomiche siano state fatte sovrattutto sugli spermatozoi [granuli di V. Brunn ('84) nella spermatistogenesi del Topo, guaina spirale di Benda ('97—'03)] di molti Vertebrati: pure le nostre conoscenze più precise su di esse sono state attinte dallo studio degli elementi preseminali e, in particolar modo, del periodo spermatocitogenetico.

Prescindendo dagli elementi somatici — nei quali (epitelio renale) già Altmann ('94) aveva descritto coi suoi «*vegetative Fäden*» i nostri condrioconti — queste più precise cognizioni sul condrioma hanno avuto la loro base nella dimostrazione dell'esistenza di condriosomi filamentosi, fornita per la prima volta in mitosi spermatocitiche. È infatti merito di Benda ('99) l'aver per primo dimostrato che nel periodo di accrescimento e nelle divisioni spermatocitiche di un Coleottero (*Blaps*) esistono delle formazioni filamentose che Benda interpretò come mitocondriali: cioè della stessa natura dei granuli già da lui illustrati nella spermatogenesi dei Mammiferi. Benda trasse la sua convinzione da due fatti: il criterio tintoriale della colorabilità specifica e il fatto indiretto che non esistevano nel protoplasma degli elementi studiati altre formazioni presumibilmente condriosomiche all'infuori dei filamenti suddetti. Questi ultimi, che sono da considerarsi forse come veri condrioconti (malgrado che Benda, trovandosi di fronte al fatto nuovo, abbia voluto interpretarle come condriomiti, cioè risultanti da fusione incompleta dei granuli presenti negli spermatogoni — in base al loro aspetto leggermente varicoso), si orientano, secondo la descrizione di Benda, parallelamente al maggior asse del fuso e all'esterno di esso, in un fascio che sembra sia destinato ad esser diviso trasversalmente dall'insinuarsi della membrana cellulare divisoria. Benda ha in tal modo, con queste ricerche e col successivo suo lavoro sintetico ('03), inaugurato la serie delle ricerche sul comportamento dei condriosomi filamentosi durante la mitosi.

Per i Vertebrati, Benda sostiene l'esistenza di condriosomi granulari così nelle cellule seminali che preseminali; e in queste ultime tanto nello stato di riposo che di divisione; le figure di divisione spermatogoniale e di mitosi eterotipica di *Salamandra*, da Benda fornite a Waldeyer ('06), dimostrano dei granuli mitocondriali sparsi per il citoplasma fuori dell'area occupata dal fuso ed orientati in corrispondenza dei poli della figura cinetica, a formare — secondo Benda — la parte principale delle radiazioni polari.

Mentre numerose sono le ricerche che, dopo quelle di Benda, sono state condotte sulla sorte dei condriosomi durante le divisioni di maturazione degli Invertebrati; per i Vertebrati invece le notizie sullo stesso argomento sono rimaste piuttosto scarse ed incomplete. Infatti, oltre alle su citate osservazioni di Benda non esistono a quest'ultimo riguardo che gli studii degli Schreiner ('05, '08) sui Missinoidi, di Jordan ('11) sull'*Opossum*, di Duesberg ('07) sul Ratto, di Regaud ('08, '10) pure sul Ratto, di Duesberg ('07) sulla Cavia, di Leplat ('10) sul Gatto. Secondo questi Autori i condriosomi partecipano alla mitosi sotto forma di granuli disseminati uniformemente nel citoplasma, sì che nella bipartizione del corpo cellulare si suddivide passivamente fra le due cellule figlie in due parti eguali il materiale condriosomico; solo gli Schreiner ('05, '08) hanno creduto di sorprendere una suddivisione del condrioma in due parti di volume molto ineguale, ognuna delle quali destinata a ciascuna cellula figlia.

Duesberg ('08 b) ha per il primo insistito, a proposito della spermatogenesi del Ratto, sul particolar significato da attribuirsi alla partecipazione dei condriosomi alle cinesi di maturazione: queste ultime effettuerebbero cioè una riduzione anche nella quantità di sostanza mitocondriale, poichè, ammettendo che nel periodo intercinetico non si abbia aumento dei condriosomi, sarebbe da dedursi che le due divisioni rapidamente susseguentisi riducano il numero (e per conseguenza la massa dei mitocondri) ad $^1/_4$ del quantitativo presente nello spermatocita del primo ordine.

Nessun Autore — ch'io mi sappia — ha mai descritto l'intervento di condrioconti e un comportamento tattico loro, durante le divisioni di maturazione dei Vertebrati.

Più numerose che per il periodo riduttivo della Spermatogenesi dei Vertebrati, sono le osservazioni fatte su di un egual momento della spermatogenesi degli Invertebrati. Riassumiamo, seguendo al solito l'ordine

cronologico, quelle fra di esse che ci sembrano di maggior valore per dar luce all'argomento che ci interessa.

Meves ('00) ha fatto delle osservazioni che non sono facilmente sovrapponibili a quelle di Benda sulla *Blaps.* Nella serie dei piccoli spermatociti di *Paludina v.*, Meves ha riconosciuto che i mitocondri presenti nei primi stadii del periodo auxocitario, ulteriormente si fondono in modo da formare dei filamenti, i quali divengono in seguito ansiformi — finchè si chiudono in un certo numero di anelli che si raggruppano attorno all'idiozoma. Nella metafase e successivamente nella anafase della prima e della seconda divisione, questi anelli, allungatisi nella direzione dell'asse fusoriale, si dispongono intorno al fuso fra l'uno e l'altro gruppo polare di cromosomi; si dividono trasversalmente, infine, in corrispondenza del piano equatoriale, in modo che ciascun semianello passi a ciascuna cellula figlia.

Nella *Pygaera b.* ('00, '03) Meves stesso ha descritto, nella serie dei grossi e dei piccoli spermatozoi. un comportamento dei condriosomi delle divisioni di maturazione che è assai diverso da quello descritto nella *Paludina* — in quanto i mitocondri vescicolari si riuniscono in un ammasso di filamenti addensati, il quale si strozza a clessidra nell'anafase, per ripartirsi fra le due cellule figlie in ambo le divisioni di maturazione.

Colle ricerche di Benda e di Meves vediamo adunque impostarsi un problema che interesserà successivamente molti citologi: il destino cioè dei condriosomi filamentosi durante la divisione cellulare.

N. Holmgren ('02) ha descritto nella spermatogenesi della *Silpha c.* dei condriosomi i quali, di forma vescicolare nel periodo auxocitario, confluiscono poi durante la mitosi in fasci che circondano il fuso centrale e che vengono strozzati nel piano equatoriale dal solco divisorio, in ambo le divisioni di maturazione. Voinov ('03) nello studiare le divisioni degli spermatociti di un Coleottero (*Cybister r.*) ha probabilmente errato nel ritenere condriosomiche delle formazioni («*couronne granuleuse*») che evidentemente non lo sono; al contrario — come hanno fatto rilevare anche Giglio-Tos e Granata ('08) e Duesberg ('10c) — sono da ritenersi invece dei veri e propri condrioconti quei filamenti da Voinov interpretati come fibrille periferiche del fuso, i quali durante la divisione cellulare si dividono fra i due elementi figli.

Henneguy ('04) ha descritto in alcuni Insetti la ripartizione del condrioma nell'atto delle divisioni maturative; riassumeremo più sotto le osservazioni di Fauré-Fremiet che hanno completato le osservazioni di Henneguy. I granuli da Bouin ('05) osservati nelle divisioni degli spermatociti di *Scolopendra* (originatisi per dissolvimento del materiale

ergastoplasmatico preesistente), che si raccolgono ai poli della figura cinetica, sono evidentemente formazioni mitocondriali.

Depdolla ('05, '06) ha studiato nel *Lumbricus* dei granuli condriosomici che circondano il fuso nella prima mitosi di maturazione e scompaiono nella intercinesi per ricomparire nella seconda mitosi, al termine della quale si aggregano in un anello situato nel piano equatoriale: il solco divisorio dei citoplasmi opera una bipartizione del condrioma alle cellule figlie.

Le formazioni da Pantel e de Sinety ('06) studiate nel periodo spermatocitogenetico di un Emittero, la *Notonecta g.*, e da loro distinte col nome di «materiale periassile semplice» e di «materiale periassile figugurato», (le quali formazioni nelle mitosi vengono suddivise equamente alle cellule figlie) appartengono evidentemente — almeno per quel che riguarda il primo tipo di organuli — alla categoria dei condriosomi.

Gli «pseudocromosomi» che Gross ('07) ha osservato nel periodo di maturazione della spermatogenesi del *Pyrrhochoris a.*, sono evidentemente dei condrioconti; durante la mitosi questi passano indivisi nelle cellule figlie. Nel periodo auxocitario del *Dytiscus* Schäfer ('07) ha osservato l'allineamento in condriomiti dei granuli preesistenti nel periodo spermatogoniale; durante la mitosi i condriosomi si ripartiscono fra le cellule figlie; nello spermatocita del secondo ordine, avverrebbe di nuovo la frammentazione dei filamenti in granuli.

Secondo Otte ('07), si verifica nella divisione spermatocitaria della *Locusta* una disseminagione dei condriosomi (originatisi per frammentazione di un corpo mitocondriale preesistente nell'auxocita) nel citoplasma cariocinetico ed un' equa distribuzione dei suddetti alle cellule figlie. Nelle mitosi maturative spermatiche di un altro Ortottero (*Forficula a.*), Zweiger ('07) ha notato che i condriosomi, foggiati a filamento, circondano la figura acromatica, per poi dividersi trasversalmente nella separazione dei citoplasma figli. Wilke ('07) ha osservato anch'esso nel periodo spermatocitogenetico della *Hydrometra l.* dei condrioconti, rigonfii alle estremità, i quali sembrano dividersi trasversalmente.

Wassilieff ('07) ammette che, nel periodo di accrescimento della spermatogenesi della *Blatta g.*, si originino a spese di materiale uscito dal nucleo dei condriosomi filamentosi, i quali, nelle cinesi di maturazione, sarebbero trasmessi a ciascuna delle due cellule figlie interi: senza cioè aver subito alcuna divisione trasversale. Vedremo come queste ricerche, che negano una qualunque partecipazione attiva dei condriosomi alle mitosi, siano state contraddette da osservazioni che Duesberg ('10 c) ha compiuto sullo stesso materiale.

Meves ('07 a) ha illustrato nella spermatogenesi dell'*Apis m.* il costituirsi, durante il periodo di accrescimento dello spermatocita, di condrioconti, per confluenza di granuli preesistenti; durante la profase della prima divisione di maturazione (che è abortiva e che ha per effetto la separazione di una piccola gemma citoplasmatica) i condrioconti si dispongono attorno al fuso acromatico nel piano equatoriale, ove sono strozzati dal solco divisorio — in modo che una breve porzione trasversale di essi venga eliminata colla gemma suddetta. Lo stesso fenomeno si verifica anche nella seconda divisione, nella quale si ha però l'espulsione di una piccola cellula provvista di nucleo, oltre che di materiale condriosomico.

Meves e Duesberg ('08) e Lams ('08) hanno quasi contemporaneamente pubblicato delle osservazioni sul destino dei condriosomi durante le divisioni spermatocitarie: i primi nella *Vespa c.*, il secondo nella Formica. Meves e Duesberg hanno riconosciuto un processo assai simile a quello che avviene nell'Ape; colla sola differenza, che la seconda divisione maturativa porta alla formazione di due spermatidi eguali, ognuno dei quali provvisto in egual misura della sua parte di condriosomi. Lams ha osservato che nella profase della prima divisione maturativa della Formica si formano, a spese di condriosomi non ben analizzabili nei primi momenti dell'evoluzione auxocitaria, dei filamenti che divengono via via più distinti e che si dispongono longitudinalmente di lato al fuso; la mitosi porta consecutivamente al distacco di una gemma protoplasmatica, colla quale viene emessa una piccola porzione del condrioma. Nella seconda divisione il fascio dei condrioconti, foggiato a semiluna, si assottiglia nella sua parte media posta a livello del piano equatoriale e finisce col dividersi in due ammassi che vengono trasmessi a ciascuno dei due spermatidi.

Giglio-Tos e Granata ('08), nelle loro ben note ricerche sul *Pamphagus*, hanno seguito l'evoluzione del condrioma nelle divisioni spermatogenetiche di maturazione. Senza addentrarci nel suggestivo significato teorico che hanno attribuito gli Autori al processo da loro investigato, ricorderemo che quest'ultimo si esplica con una condriodieresi preparata e resa possibile da una cosiddetta condriotassi. Nell' auxocita esistono in principio dei condriosomi (ammassi di mitocondri granulari) compatti; successivamente questi ultimi si disgregano in granuli che si spargono per il citoplasma durante la profase e la metafase. Nella anafase ha inizio la condriotassi, cioè un orientamento dei mitocondri tale, che ne risulta la formazione di condriomiti nel senso di Benda; questi man mano si allungano, mentre sono disposti attorno alla porzione paraequatoriale del fuso

centrale, sì da fornire al fuso stesso un mantello di filamenti paralleli al suo maggior asse. Il mantello mitocondriale foggiato a cilindro cavo, successivamente, colla citodieresi, vien ripartito equamente fra gli spermatociti del secondo ordine. In questi ultimi avviene una confluenza dei mitocondri in due corpi mitocondriali compatti, i quali nella seconda divisione si disgregano di bel nuovo in granuli per comportarsi successivamente come nella prima divisione. Giglio-Tos e Granata ammettono adunque un comportamento attivo dei condriosomi durante la mitosi; in più suppongono che il condrioma dell'auxocita rappresenti una tetrade. La prima divisione trasmette una diade a ciascun spermatocita del secondo ordine; quest'ultimo — per mezzo della seconda divisione maturativa — trasmetterebbe a ciascun spermatide un solo corpo mitocondriale (paranucleo).

È possibile che Arnold ('08) abbia veduto in quello che egli interpreta, nella prima e seconda divisione di maturazione dell'*Hydrophilus p.*, come residuo fusoriale, un condrioma costituito da condrioconti diretti fra loro parallelamente, che proviene forse dalla divisione trasversale di un mantello perifusoriale condriosomico anafasico. v. Baehr ('09) descrive l'emissione, dallo spermatocita del primo ordine di *Aphis s.*, di una piccola cellula sprovvista di condriosomi; questi ultimi rimangono tutti nella cellula più grande (spermatocita del secondo ordine), la quale si divide ripartendo in egual misura i condriosomi fra i due spermatidi.

Secondo Buchner ('09) i condriosomi, granulari negli auxociti di *Oedipoda* (Ortottero), si allineano nella metafase in filamenti che si divideranno trasversalmente coll'espletarsi della mitosi. Gérard ('09) in uno studio accurato sulla spermatogenesi di un Acridio — lo *Stenobothrus b.* — descrive l'evoluzione dei condriosomi durante il periodo spermatocitogenetico. Nello stadio di accrescimento, i mitocondri aumentano in quantità parallelamente all'ingrossamento del nucleo e, in ultimo, tendono ad ordinarsi in brevi filamenti che costituiscono, attorno ai filamenti del fuso anafasico, dei fasci di condrioconti paralleli all'asse del fuso e fra di loro; codesti fasci si strozzano nella loro parte media allorquando la membrana cellulare divisoria si invagina fino a loro. Nella seconda divisione, i condriosomi si comportano in modo identico alla prima.

Fauré-Fremiet ('10b) ha completato e confermato colle sue ricerche le osservazioni di Henneguy ed ha descritto dei condrioconti sovrapposti al fuso centrale, i quali, nella telofase delle divisioni spermatocitiche del *Pyrrhocoris a.* e del *Gryllus c.*, si dividono trasversalmente. Inoltre lo

stesso Autore ha riconosciuto, in un certo momento del periodo auxocitario dell'*Arion r.*, la presenza di condriosomi filamentosi.

Duesberg ('10c) ha studiato in diversi Insetti il comportamento mitotico dei condriosomi. Specialmente le ricerche sulla *Blaps* e la *Blatta* sono interessanti, in quanto confermano le osservazioni di Benda che abbiamo sopra riassunto. Fin dai primi stadii dell' evoluzione auxocitaria di *Blatta*, Duesberg nota la presenza di condrioconti (contrariamente a quanto riteneva Wassilieff '07), i quali, a partire da un dato momento, si accumulano ad un polo del nucleo, dove evidentemente è situato l'idiozoma. Nella metafase i condrioconti tendono ad allinearsi secondo l'asse del fuso; nell' anafase avviene la divisione trasversale di almeno una parte dei condriosomi; questo rilievo contraddice l'asserzione di Wassilieff del passaggio dei condriosomi indivisi all'una o all'altra delle cellule figlie. Duesberg ha dimostrato, per la seconda divisione maturativa della *Blatta*, un comportamento dei condriosomi simile a quello della prima.

Nella *Blaps* Duesberg ha osservato tutti i fatti descritti prima da Benda; negli ultimi momenti del periodo auxocitario i condrioconti sono perfettamente lisci e — nella mitosi — circondano completamente la figura anafasica, disponendosi come a palizzata attorno al fuso; il piano di separazione delle cellule figlie taglia in due parti esattamente eguali il fascio dei condrioconti, i quali nel corso della telofase sono andati leggermente allungandosi e riducendosi di calibro. Lo stesso fatto si compie nella seconda divisione maturativa; l'intero processo verrebbe perciò a ridurre nello spermatide — come nel Ratto — la sostanza condriosomica ad $^1/_4$ della quantità esistente nell'auxocita giunto a completo sviluppo.

Perroncito ('10) illustra nello spermatocita (serie oligopirene) della *Paludina v.* delle formazioni che egli chiama «condrosomi di Meves» le quali, nei primi stadii del periodo di accrescimento foggiate a filamento, sembrano disgregarsi all'approssimarsi della mitosi — in modo da formare dei brevissimi filamenti ad estremo ingrossato e qualche raro granulo, disposti in serie lineare fra i dittosomi ordinati in corona. Allorquando questi ultimi si raccolgono in 2 gruppi polari, i condriosomi sono irregolarmente sparsi per tutto il citoplasma; alla fine della mitosi essi vengono passivamente ripartiti fra le due cellule figlie. Inoltre Perroncito suppone la natura condriosomica di taluni filamenti presenti durante la prima divisione maturativa dello spermatocita della serie eupirene di *Paludina*.

Montgomery ('11) ha minuziosamente descritto l'evoluzione, durante il periodo di maturazione dell'*Euschistus*, di condrioconti, i quali si de

lineano a spese di granuli preesistenti e vanno quindi aumentando di numero e di lunghezza durante il periodo auxocitario (non però a spese di entità morfologiche cromatiniche fuoriuscenti dal nucleo). Codesti condrioconti sono dapprima varicosi, acquistano quindi una superficie liscia; ma non hanno però tutti un identico calibro: sparsi irregolarmente nei primi stadii per il citoplasma, si orientano all' approssimarsi della profase un po' indecisamente verso i centrioli. Allorquando il primo fuso di maturazione si è formato, i condrioconti si dispongono all' intorno delle fibre mantellari e allora si può dedurne approssimativamente il numero (9—17). Il decorso della maggior parte dei condrioconti è sensibilmente parallelo alla maggior asse del fuso; però alcuni di essi rimangono situati vicini ad uno dei poli, per modo che lo strozzamento del citoplasma, se divide trasversalmente i primi, non ha lo stesso effetto sui secondi, che passano perciò indivisi nello spermatocita del secondo ordine. Spesso i condriosomi appaiono più numerosi ad un polo della figura cinetica che all'altro; per modo che si dovrebbe ammettere una ineguale distribuzione del condrioma alle cellule figlie. Nella seconda divisione di maturazione si compie lo stesso processo che abbiamo riferito per la prima.

Hirschler ('13) ritiene che per confluenza di granuli si formino nell' auxocita di *Ascaris l.* dei brevi condrioconti, i quali, applicati alla superficie dei granuli rifrangenti e con essi diffusi a tutto il protoplasma, vengono suddivisi numericamente, nella separazione dei corpi cellulari, fra le cellule figlie — nelle quali si ridissolvono in granuli.

Dalle ricerche di Sokolow ('13) sulla spermatogenesi dell'*Euscorpius c.*, risulta che i mitocondri contenuti negli auxociti si riuniscono ad un dato momento in brevi filamenti, i quali all'approssimarsi della mitosi si chiudono su loro stessi in modo da formare degli anelli simili — secondo l'Autore — a quelli descritti da Meves ('00) e da Otte ('07); invece di spezzarsi però come nella *Paludina*, vengono suddivisi in parti eguali fra i due spermatociti del secondo ordine. Nell'intercinesi gli anelli si raggruppano ad un polo del nucleo; nella seconda mitosi di maturazione essi si spargono di nuovo nel citoplasma e passano integri in egual numero a ciascuno dei due spermatidi. La grandezza degli anelli sembra rimanere invariata; il numero sarebbe nello spermatide = a $^1/_4$ del numero presente nell'auxocita. Sokolow ammette che il numero degli anelli mitocondriali dell'auxocita di *Euscorpius* sia 24; dei quali 12 verrebbero trasmessi ad ogni spermatocita del secondo ordine. Ciascuno di questi poi ne trasmetterebbe 6 a ciascuno degli spermatidi; ciò costituisce secondo l'Autore

una verifica della ipotesi espressa da Duesberg sulla riduzione quantitativa dei condriosomi[1]).

Se si considerano i resultati che abbiamo qui sopra riassunto, si acquista la convinzione della persistenza dei condriosomi (a morfologia alquanto svariata) come tali durante le mitosi di maturazione. I condriosomi, presenti in un gran numero di oggetti fin nel periodo spermatogoniale e nei primi momenti del periodo auxocitario, si rendono particolarmente evidenti all'approssimarsi della tappa maturativa. Codesta maggior dimostrabilità dei condriosomi coincide spesso col loro costituirsi in filamenti, i quali — secondo il parere di molti degli Autori citati — si originerebbero per il confluire di granuli mitocondriali, nei primissimi momenti del periodo di accrescimento. Secondo alcuni Autori poi, il primo apparire del condrioma, oppure l'aumento quantitativo di esso — a partire da un certo momento del periodo auxocitario — sarebbe determinato dall' accumulo nel citoplasma di materiale cromatico espulso dal nucleo.

Se è quasi generalmente ammessa adunque una partecipazione dei condriosomi alle divisioni di maturazione, pure le modalità che la governano non possono ridursi ad uno schema generale. La causa precipua di questa irriducibilità risiede nella varietà in forma dei condriosomi. Non si può dubitare infatti che in un determinato materiale gonogenético (per esempio, dei Mammiferi) i condriosomi non siano realmente granulari; in un materiale certamente più vasto esiste la forma filamentosa: in tal caso si verifica un caratteristico comportamento dei condrioconti nella mitosi, che ha il più delle volte per effetto la loro divisione trasversale nel piano equatoriale della figura mitotica.

Propendo del resto a credere che, in una certa parte del materiale dove osservazioni non del tutto persuasive hanno dimostrato l'esistenza di granuli, ricerche ulteriori di revisione metteranno forse in evidenza dei condrioconti.

L'equa ripartizione dei condriosomi nella mitosi fra le cellule figlie è un fatto che è adunque ormai provato per la grande

[1]) Secondo una recente memoria di Wilke ('13) [pubblicata dopo la redazione del presente lavoro] nel periodo di maturazione della spermatogenesi di *Hydrometra p.* intervengono dei mitocondri e dei condrioconti, i quali si moltiplicherebbero per scissione. I condrioconti spesso si orientano nella metafase radialmente verso i corpuscoli polari al di fuori del fuso e aumentano di volume, sì da meritare allora — secondo l'Autore — il nome di pseudocromosomi; alla telofase sono ripartiti fra le due cellule figlie. Un identico processo si compie nella seconda divisione.

maggioranza dei casi: il significato particolare che sarebbe da assegnarsi — secondo taluni Autori — a questa ripartizione nel caso speciale delle divisioni riduttive, sarà discusso nell'ultimo capitolo.

c) I condriosomi nella spermatistogenesi.

Se la partecipazione dei condriosomi all'istogenesi dello spermatozoo non può in verun modo esser posta in dubbio, per consenso quasi unanime degli Autori — le modalità che regolano codesta partecipazione variano d'altra parte nei diversi gruppi di animali. Non ci dilungheremo oltre misura nel riferire i particolari delle singole modalità: in primo luogo, perchè nel recente scritto riassuntivo di Duesberg ('12) esiste una rivista dei lavori sull'argomento di cui si tratta; in secondo luogo perchè il processo da me osservato differisce troppo — come a suo tempo vedremo — da quelli altrove studiati, perchè da un minuzioso raffronto del primo coi secondi possano sorgere criterii unitari.

Dalle ricerche in proposito risulta che negli spermatozoi del tipo filiforme (Nematospermii) i condriosomi verrebbero a situarsi, nel corso della spermatistogenesi, per lo più nel pezzo intermedio della coda, formando in corrispondenza di esso un rivestimento più o meno completo al filamento assile; mentre invece negli spermatozoi sprovvisti di coda (Sferospermii) che si incontrano in taluni Invertebrati, la posizione che i condriosomi occupano nello spermatozoo adulto sarebbe assai diversa.

Per quanto riguarda la 1ª categoria di spermatozoi suddetta, i condriosomi, sebbene localizzati in una sede assai costante nello spermatozoo adulto, si organizzerebbero tuttavia nelle diverse specie in un organo che non ha sempre la stessa forma.

Sono universalmente note le prime ricerche di Benda ('97) che hanno dimostrato l'esistenza di una spirale costituita da granuli mitocondriali negli spermatozoi del Topo e di altri Mammiferi, e le ricerche posteriori dello stesso Autore ('98) sull'esistenza di una guaina mitocondriale in alcuni Anfibii, Rettili e Uccelli. Mentre nei Mammiferi la guaina mitocondriale è situata, secondo Benda, [d'accordo colle antiche ricerche di v. Brunn ('84)] in corrispondenza del pezzo intermedio della coda, negli altri Vertebrati non avrebbe sempre la stessa sede — così per esempio in alcuni Sauropsidi (*Columba*, *Lacerta*) e Anfibii (*Bombinator*), nei quali i mitocondri risiederebbero, secondo Benda ('03), anche a livello della testa dello spermatozoo. Secondo Retzius ('09b) invece, nella *Columba* vi sarebbe una spirale attorno al lungo pezzo intermedio.

Negli spermatozoi di altri Anfibii, come ad esempio la *Rana e.*

[Benda ('98, '03)], la *Rana f.*, *Rana a.*, ecc. [Broman ('07)], ecc. è stata veduta una guaina mitocondriale spirale la quale era apprezzabile — più o meno nitidamente — attorno al filamento assile della coda. Benda aveva inoltre descritto ('98) negli spermatozoi del *Triton* una finissima spirale supposta mitocondriale, la quale pareva involgesse per quasi tutta la sua lunghezza il filamento assile della coda; però, dopo che Meves ha insistito sul fatto già precedentemente ('97a) assodato, che cioè l'involucro citoplasmatico della coda degli spermatozoi di Urodeli non è completo, ma è limitato ad un solo lato del filamento assile della coda, Benda ('03) si è convinto che si tratti — così nel *Triton* come nella *Salamandra* — di una striatura trasversale dell'involucro suddetto, determinata da tratti paralleli di mitocondri allineati.

Duesberg ('07) ha studiato nello spermatide del Ratto l'ordinarsi di tutti i granuli condriosomici ivi presenti in una spirale che circonda il filamento assile, la quale diviene difficilmente reperibile nello spermatozoo adulto. Regaud ('10) ha nello stesso animale descritto una solo parziale partecipazione dei mitocondri alla formazione della guaina periassile ed ha sostenuto che nello spermatozoo maturo le spire siano riunite da sostanza mitocondriale interposta.

Duesberg ('10 c) nega — contrariamente alle osservazioni di Benda ('98) e di Retzius ('09 f) — che i mitocondri dello spermatide di Cavia costituiscano una vera e propria spirale; afferma invece che essi formano una sottile guaina periassile, nella quale sono appena riconoscibili alcuni dei granuli che le hanno dato origine — divenuti indistinti forse per deposizione fra essi di una sostanza cementante. Anche secondo le ricerche di Leplat ('10) sul Gatto, i condriosomi granulari dello spermatide non formerebbero una vera spirale, ma si fonderebbero in dischetti sovrapposti, che nello spermatozoo maturo confluirebbero in una guaina condriosomica omogenea.

Retzius ('06 a—f, '09 a—n) ha descritto negli spermatozoi di una grande quantità di Pesci, Anfibii, Rettili, Uccelli e Mammiferi, la presenza di un involucro — costituito ora da granuli distinti, ora da una netta spirale risultante da fusione di granuli — per lo più situato attorno al filamento assile a livello del pezzo intermedio della coda; la particolare struttura di codesta guaina non si conserverebbe per lo più nello spermatozoo giunto a completo sviluppo, per la deposizione di sostanza cementante fra i granuli costituenti l'involucro stesso.

Jordan ('11) ha osservato nell'*Opossum* l'espulsione di parte dei granuli condriosomici dallo spermatide, mentre altri concorrono alla formazione di una guaina spiraloide attorno al filamento assile; queste

ricerche sono in accordo con quelle di Benda ('06), ma in contrasto colle osservazioni di Retzius ('09 c) su materiale simile.

Il primo Autore che si sia validamente adoperato a stabilire una omologia fra le formazioni mitocondriali della spermatistogenesi dei Vertebrati e quelle della spermatistogenesi degli Invertebrati, è stato Meves ('00, '03), allorquando ha interpretato il *Nebenkern* di La Valette St. George ('86, '87) come un organo di origine condriosomica e ne ha descritto la partecipazione (strato periassile) alla costituzione dello spermatozoo di *Paludina v.* e di *Pygaera b.* Nonostante il tentativo di Meves [la portata generale delle idee del quale è stata discussa da Benda ('03)], vi è disparità di vedute sulla partecipazione del condrioma alla genesi dello spermatozoo degli Invertebrati, sia per quel che riguarda il grado, sia il modo di codesta partecipazione. Ma comunque si determini quest'ultima: sia che abbia per effetto la costituzione di una spirale [Bonnevie ('04, '06)], oppure di un involucro cilindrico omogeneo attorno al filamento assile (maggioranza dei casi); sia codesta partecipazione parziale [Popoff ('07)], o totale — è da ritenersi che essa si verifichi indubbiamente anche nella spermatistogenesi degli Invertebrati.

Le ricerche di Wassilieff ('07) — secondo le quali il corpo omogeneo (condriosomico) dello spermatide della *Blatta g.* [già da La Valette St. George ('86 a, b, '87) studiato come *Nebenkern* e riconosciuto come un organulo che prende parte attiva alla costituzione dello spermatozoo], dopo essersi diviso in due parti ed essersi accollato al filamento assile, scomparirebbe ulteriormente, forse per espulsione dalla cellula — stanno in disaccordo colle ricerche successive di Duesberg ('10 c) che hanno dimostrato la diretta partecipazione del condrioma alla costituzione dello spermatozoo. Anche Buchner ('09) sostiene la espulsione dei condriosomi dallo spermatide in evoluzione dell' *Oedipoda*; un tal processo non si verifica in altri Acridii: per esempio nello *Stenobothrus b.* [Gérard ('09)].

Senza dilungarci oltre nell'esposizione dei dati, particolarmente numerosi, che si riferiscono all'intervento del condrioma nella spermatistogenesi degli Insetti, soffermiamoci ora su quelle ricerche che non limitano alla coda la presenza di un involucro condriosomico, bensì la estendono alla regione della testa dello spermatozoo; queste sono specialmente le ricerche condotte sul materiale nel quale gli Autori si sono trovati di fronte a spermatozoi privi di coda (Nematodi, Decapodi ecc.). Depdolla ('05, '06) ad esempio ha osservato nello spermatozoo del Lombrico il raccogliersi dei mitocondri attorno al pezzo intermedio ed alla parte più caudale della testa. Secondo le minuziose osservazioni di Koltzoff ('06) sugli

spermatozoi di alcuni Decapodi, una parte dei condriosomi confluisce in numerosi brevi filamenti che fasciano la testa dello spermatozoo, spesso in forma di spirale; i rimanenti condriosomi rimangono inclusi in alcuni prolungamenti protoplasmatici situati in vicinanza del collo. Koltzoff fonda sulle sue estese ricerche la ipotesi della funzione scheletrica dei condriosomi, che verrà altrove presa in esame. Spitschakoff ('09) in un altro Crostaceo, il *Leander a.*, ha seguito il raggrupparsi dei condriosomi attorno alla porzione posteriore della testa nello spermatozoo adulto. Secondo Koster ('10) lo spermatozoo del *Gammarus p.* possederebbe una spirale mitocondriale che attornia la testa.

Nell'*Ascaris* i condriosomi (granulari) sono situati, secondo le ricerche di Tretjakoff ('05), di Meves ('11) e quelle recenti di Hirschler ('13), nella testa dello spermatozoo. In altri Nematodi Retzius ('10 b) ha veduto che gli spermatozoi contengono dei granuli — evidentemente mitocondriali — a sede perinucleare. In un Nemertide, (*Malacobdella g.*) lo stesso Autore ('06 a) ha osservato uno strato finemente granuloso attorno alla porzione posteriore della testa dello spermatozoo.

Oettinger ('09) descrive la partecipazione dei condriosomi alla istogenesi della testa dello spermatozoo di un Miriapode, il *Pachyiulus v.* Dingler ('10) descrive in un Trematode, il *Dicrocoelium l.*, delle formazioni condriosomiche filamentose che circondano il nucleo dello spermatide in evoluzione, che poi sarebbero — almeno in parte — espulsi[1]).

Chiudiamo questa rapida rassegna critica coll'insistere su quanto abbiamo affermato in principio: che cioè, se è fuori di dubbio la reale cooperazione di formazioni, che si sono volute raggruppare sotto il nome di condriosomiche, alla costituzione dello spermatozoo di tutti gli animali studiati, non esiste per altro conformità di vedute sul preciso determinismo di questo processo. Probabilmente i tentativi di generalizzare la forma e la sede del condrioma di taluni spermatozoi, hanno contribuito talvolta ad oscurare l'argomento. Altra causa d'incertezza nelle nozioni sui condriosomi degli spermatozoi, è rappresentata forse dal fatto che molte delle descrizioni degli Autori si riferiscono a spermatozoi non ancora completamente evoluti e che — salvo alcune eccezioni — non si è troppo spesso cercato di rintracciare nello spermatozoo adulto le individualità condriosomiche.

---

[1]) Kuschakewitsch ('13) in un lavoro comparso quando questo già era redatto, illustra dei lunghi condrioconti nella spermatistogenesi di un mollusco, il *Conus m.*, parte dei quali vengono a situarsi nello spermatozoo parallelamente al suo maggior asse, per formare verosimilmente un apparato di sostegno nel senso di Koltzoff.

Si comprende quanto la precisa struttura dello spermatozoo adulto, anche per quel che riguarda il condrioma, interessi il citologo, sovrattutto per le questioni di biologia generale che, nell'analisi del processo della fecondazione, si possono impostare sulla base della morfologia dello spermatozoo.

III. Tecnica.

Come materiale di indagine, mi sono valso vantaggiosamente del testicolo del *Geotriton fuscus*, del quale animale avevo studiato la spermatogenesi in una pubblicazione ('11 a) che aveva particolarmente di mira lo studio dei cambiamenti strutturali dell'organo nell'avvicendarsi del ciclo spermatogenetico, la ricerca del processo della riduzione cromatica e l'osservazione del determinismo spermatistogenetico.

Contrariamente a quanto avevo creduto in passato, che cioè il materiale suddetto non fosse favorevole allo studio del protoplasma e degli organi eventualmente inclùsivi, è ovvio aggiungere qui che mi si dimostrò invece — alla stregua di una tecnica larga ed insistente — un materiale di elezione per lo studio degli organuli differenziati in seno al protoplasma, e soprattutto dei condriosomi.

Nelle mie ricerche mi sono valso largamente dell'esame a fresco — previa semplice diluizione del parenchima testicolare in una soluzione di NaCl al 0,9%; senza bisogno di alcuna manovra meccanica eventualmente dannosa, gli elementi si dissociano in modo perfetto.

Le osservazioni venivano eseguite, a luce artificiale, coll'Apocromatico Zeiss di mm. 2: col condensatore ordinario o col condensatore parabolico.

Non sto ha ripetere tutti i dettagli di tecnica che ho diffusamente esposto altrove ('12 a). Dirò solo che moltissimi furono i procedimenti tecnici adoperati, molti quelli coi quali sono riuscito a mettere in evidenza i condrioconti, accanto ad altre formazioni contenute nel citoplasma, negli elementi spermatici del *Geotriton*.

I fissatori che permettono alla successiva colorazione un maggior risalto dei condriosomi sul fondo e una miglior fissazione dell'elemento cellulare, mi si sono dimostrati i seguenti: il fissativo di Flemming modificato da Benda (specialmente se seguito dall'ulteriore trattamento di fissazione di Benda) e il liquido di Maximow (formula contenente acido osmico) leggermente modificato nelle proporzioni dei singoli componenti.

Per il materiale fissato in questi ed altri liquidi contenenti l'acido osmico, mi sono convinto che il processo dell'imbianchimento delle sezioni,

per ossidazione-riduzione secondo le norme di Rubaschkin [vedi Levi ('12 b)], offre dei vantaggi notevolissimi.

Fra le colorazioni, quella dalla quale ho ottenuto i risultati più brillanti è stata l'ematossilina Heidenhain. Sono però riuscito a colorare i condriosomi anche per mezzo di colorazioni progressive (ad es. colla miscela Pianese a base di verde malachite e di fucsina acida), nelle quali gli organuli stessi assumono assai più intensamente del citoplasma il colore acido.

Il procedimento completo di Benda si è dimostrato invece di riuscita alquanto incerta per il mio materiale, nel quale l'esame sul vivente fornisce delle immagini molto più chiare per la dimostrazione dei condriosomi, che non la colorazione di Benda. Questo mi sembra aver valore per la critica che si può muovere all'esclusivismo di taluni ricercatori, i quali vollero dare al suddetto metodo il valore di una reazione microchimica.

Le ricerche colla tecnica di Ciaccio per i lipoidi hanno avuto esito negativo; nè con ciò voglio però pronunciarmi contro la supposizione che nella costituzione chimica dei condriosomi entrino anche delle sostanze lipoidiche.

Credo opportuno di far rilevare il fatto che sono riuscito a mettere in evidenza colla colorazione di Heidenhain i condriosomi, su materiale fissato col liquido di Carnoy (cloroformio, alcool assoluto, acido acetico, sublimato).

Concludendo, ho regolato la mia tecnica in modo da tendere coi resultati verso il limite della conservazione della struttura reale — quale una lunga serie di osservazioni sul vivente me la avevano resa palese.

Dopo aver constatato l'esistenza nel vivente delle formazioni che formano il soggetto di queste ricerche — ho ottenuto da varii metodi tecnici una convergenza di resultati tale, da far collimare fra loro le osservazioni eseguite sul materiale coi metodi stessi trattati, e da renderle sovrapponibili a quelle condotte sul vivente.

IV. Parte originale (condriosomi, idiozoma e formazioni periidiozomiche nella spermatogenesi del Geotriton fuscus).

1. Spermatogoni.

Gli spermatogoni delle varie generazioni[1]) posseggono, nello stato di riposo, dei condriosomi filamentosi, che sono prevalentemente accu-

[1]) Non prendiamo in esame gli Spermatogoni a nucleo polimorfo [della citologia dei quali mi sono altrove ('11 a) occupato] perchè non ho mai potuto ottenere delle dimostrazioni soddisfacenti dei loro condriosomi.

mulati nella porzione di citoplasma nella quale risiede l'idiozoma e che mai invadono l'area di quest'ultimo. I condrioconti degli spermatogoni — a differenza di quelli degli altri elementi seminali del *Geotriton* — hanno un decorso fortemente flessuoso e formano fra di loro un intreccio aggrovigliato; del quale però è sempre possibile risolvere le unità che lo compongono, sì da constatare in esse l'assenza di mutue anastomosi.

La fig. 1 riproduce uno spermatogonio primitivo, il rivestimento in cellule follicolari del quale era completo: indizio questo che si tratta di un archispermatocita. I condriosomi hanno in questi elementi l'aspetto di brevi filamenti di calibro notevole, a decorso un poco ondulato; sono disseminati a tutto il citoplasma, pur essendo prevalentemente addensati là dove più abbondante è il citoplasma: attorno cioè all'idiozoma, che nella fig. 1 è parzialmente nascosto dai condriosomi. Non escludo che negli archispermatociti esista — a lato dei numerosissimi condrioconti — anche qualche condriosoma granulare. Qua e là esistono nel citoplasma delle sferule di varia grandezza, ben differenziabili dai condriosomi, che appartengono evidentemente alla categoria delle formazioni metaplasmatiche: sono destinate a scomparire nelle generazioni successive degli spermatogoni. Questi grossi granuli — che si incontrano così di frequente negli spermatogoni di Anfibii — sono di significato ancora oscuro, malgrado le ricerche di numerosi Autori. Può darsi che talvolta siano stati confusi coi mitocondri e questa è forse la causa che ha ingenerato contraddizioni nei dati acquisiti sui condriosomi degli spermatogoni. Resta pertanto assodato che fin negli archispermatociti si hanno condriosomi prevalentemente filamentosi.

In tutti gli spermatogoni delle generazioni successive a quelli primitivi i condriosomi continuano a mostrarsi filamentosi; anzi, tendono sempre più ad allungarsi e ad uniformare il loro calibro. La fig. 2 riproduce un tipico spermatogonio che dista di 2 o 3 generazioni da quello della fig. 1. Si osserva l'accumulo dei condrioconti, assai lunghi e aggrovigliati, all'intorno dell'idiozoma contenente i due centrioli.

La fig. 3 riproduce tre spermatogoni contigui di una stessa spermatociste, appartenenti ad una delle ultime generazioni goniali. I condriosomi hanno il solito aspetto descritto per le generazioni precedenti; solo appaiono a decorso un po' meno flessuoso che per lo innanzi. Nella stessa figura i tre idiozomi sono ben individualizzati dalla presenza di formazioni periidiozomiche modellate alla loro superficie. Queste ultime sono affatto indipendenti morfologicamente dai condriosomi; differiscono da essi per il calibro (un poco maggiore nei dittosomi) e non si trovano mai situati a qualche distanza dall'idiozoma, cioè in mezzo al condrioma.

Anzi, in taluni casi le formazioni suddette sembravano far parte della zona periferica dell'idiozoma, evidentemente per azione del fissativo, che aveva reso più intimo l'addossamento dei dittosomi alla sfera idiozomica[1]).

Sul comportamento dei condriosomi nelle mitosi spermatogoniali, ho potuto raccogliere solo dati scarsi ed incompleti — per la difficoltà incontrata nella fissazione delle mitosi stesse. Nella profase ho osservato l'addensamento dei condrioconti attorno all'abbozzo della figura acromatica; nella metafase e nella anafase i condriosomi assumono l'aspetto di stracci filamentosi, talvolta sgretolati, che si pongono all'intorno del fuso acromatico, parallelamente diretti al maggior asse di quest'ultimo. La notevole differenza esistente fra queste immagini (che non abbiamo ritenuto opportuno di raffigurare) e quelle del condrioma di spermatogoni in riposo non può a meno di lasciare aperto l'adito al dubbio che la fissazione non abbia forse modificata la reale struttura dei condriosomi della mitosi.

Sul comportamento durante la anafase e su di una possibile divisione dei condriosomi nel piano dello strozzamento cellulare, non ho dati sufficenti per profferirmi. Dati indiretti possono certo illuminarci sulla probabilità di un' equa ripartizione fra le due cellule figlie, come ad esempio il fatto che spermatogoni appartenenti ad una stessa generazione hanno dei condriomi di dimensioni sensibilmente simili.

Il fatto poi che, confrontando fra di loro spermatogoni di generazioni successive (di grandezza cioè progressivamente minore), si riceve l'impressione che l'ammasso dei condrioconti non sia diminuito quantitativamente, ma sì che la diminuzione nel volume del citoplasma porti con se un agglomeramento, una densità maggiore per così dire dei condriosomi nel citoplasma stesso; mi pare che questo fatto, dico, possa essere interpretato coll' ipotesi che il numero dei condriosomi si mantenga approssimativamente costante nelle varie generazioni, per mezzo di una divisione trasversale di essi seguita da un loro allungamento nel successivo periodo di riposo nucleare[2]).

[1]) Da alcune indagini preliminari che ho condotto su scarso materiale di *Salamandrina perspicillata*, mi sono convinto della presenza negli spermatogoni di condrioconti in tutto simili a quelli sopra descritti nel *Geotriton*.

[2]) Questo allungamento non si verificherebbe affatto, invece, negli elementi che emergono dalle ultime divisioni del periodo di moltiplicazione; infatti — come vedremo nel prossimo capitolo — gli spermatociti all'inizio del periodo di accrescimento posseggono dei condrioconti brevissimi. Può darsi che la causa del mancato accrescimento post-cinetico risieda nella grande rapidità colla quale le ultime mitosi somatiche si succedono l'una all'altra.

Ad ogni modo, nelle cinesi spermatogoniali si ottiene una giusta ripartizione fra le due cellule figlie dei condriosomi e, poco dopo la mitosi, in molte generazioni un ripristinamento nelle due cellule figlie di un quantitativo di materiale condriosomico presso a poco eguale a quello di cui era dotata la cellula madre. Ma — ripeto — questi sono dati indirettamente raccolti, che condizioni sfavorevoli alla dimostrazione dei condriosomi nelle ultime fasi della mitosi, non mi hanno permesso di dedurre obbiettivamente.

2. Accrescimento dello spermatocita.

Sin dall'inizio del periodo di accrescimento, esistono negli spermatociti delle formazioni condriosomiche. Per quanto non ci sia stato possibile di seguire nitidamente il destino dei condriosomi durante le divisioni spermatogoniali — e, per conseguenza, neanche durante la divisione che ha dato origine agli ultimi spermatogoni destinati ad entrare nel periodo auxocitario — pure ho ogni ragione per ritenere che i condriosomi di questi ultimi siano della stessa natura di quelli descritti negli spermatogoni e che siano con quelli in continuità attraverso l'ultima mitosi goniale.

La fig. 4 rappresenta due auxociti da breve tempo emersi dall'ultima divisione somatica e che si trovano in uno stadio presso a poco corrispondente a quello della fig. 9 del mio lavoro precedente ('11a). I condriosomi, sotto forma di brevi filamenti assai fini, sono sparsi a quasi tutto il citoplasma — eccezion fatta per il territorio occupato dall'idiozoma e per un brevissimo spazio ad esso contiguo — e non mostrano alcuna tendenza ad accumularsi ad un polo piuttosto che all'altro del nucleo.

Come ho accennato altrove (vedi nota a pag. 36), ritengo verosimile che la brevità dei condrioconti in questo stadio sia dovuto alla rapidità colla quale si susseguono le ultime mitosi goniali; non credo all'incontro che si abbia, nei primi momenti della tappa auxocitoria, uno spezzettamento di filamenti condriosomici preesistenti.

Nei primissimi stadii dell'accrescimento, non sono riuscito a mettere distintamente in evidenza (forse per insufficenza di tecnica) organuli periidiozomici, nè ho potuto indagarne la sorte durante l'ultima divisione goniale. L'idiozoma è al contrario evidente [vedi Terni ('11, pag. 32)] fin dai primi momenti del periodo di accrescimento. Chiare formazioni dittosomiche ho potuto dimostrare solo a partire dallo stadio della fig. 4[1]).

---

[1]) Faccio rilevare che l'interpretazione da me fornita altrove di queste formazioni ('11a), non mi è sembrata ulteriormente — nel corso delle ricerche qui esposte — esatta. Per le mie pregresse indagini (che avevano in special modo di mira — relativamente

Fin dallo loro prima comparsa, i filamenti periidiozomici presentano i caratteri strutturali che serberanno quasi invariati per l'intero periodo d'accrescimento. Sono formazioni filamentose, incurvate ad ansa oppure ad S più o meno disteso, situate in immediato contatto della superficie dell'idiozoma ovvero a qualche distanza da esso: nel quale ultimo caso uno degli estremi del dittosoma è vicinissimo all'idiozoma.

I dittosomi hanno da principio un calibro relativamente esiguo e terminano con estremità appuntite. La loro lunghezza è varia e oscilla intorno al terzo della circonferenza massima dell'idiozoma; il loro numero (20—30?) non è determinabile esattamente, perchè la loro netta dimostrazione — quale è quella necessaria per una conta — è incompatibile con uno spessore della sezione tale, da poter garantire la coesistenza di tutti i dittosomi in una sola sezione.

I filamenti periidiozomici hanno già in questo stadio un decorso all'incirca parallelo alla superficie della sfera idiozomica; quelli però fra di loro che si emancipano alcun poco dall'immediata contiguità dell'organo centrale, sono spesso diretti radialmente rispetto a quest'ultimo. Sono frequenti poi i casi in cui il filamento dittosomico è composto di una porzione, prossimale rispetto all'idiozoma, incurvata concentricamente alla superficie di esso e di una porzione distale diretta perpendicolarmente alla superficie medesima.

I pochi filamenti periidiozomici che, quasi in ogni auxocita nello stadio che andiamo descrivendo, sono situati ad una qualche distanza dall'idiozoma, vengono a trovarsi circondati strettamente dai condriosomi; da essi però possono facilmente esser riconosciuti per la loro caratteristica morfologia.

In taluni casi si osservano dei filamenti dittosomici situati ad una distanza dall'idiozoma maggiore che d'abitudine e che si direbbero emancipati dal rapporto con quest'ultimo. Data la scarsezza di cotali apparenze, non credo di dover attribuire ad esse importanza: sia in vista di un possibile meccanismo di genesi dei condriosomi, sia in rapporto all'eventualità di un particolar comportamento biologico dei dittosomi (dittocinesi?) — dato il lunghissimo tempo (4—6 mesi) che intercede fra lo stadio che esaminiamo e la prima divisione di maturazione. Non posso escludere che le manipolazioni tecniche abbiano influenza nel determinare un distanziamento di questi ultimi dall'idiozoma: basandomi sugli esami

al periodo spermatocitogenetico — l'evoluzione della sostanza cromatica) mi ero valso di preparati sovrattutto adatti a studii sui cromosomi. Successivamente, con una tecnica più adeguata alle speciali ricerche citologiche riferite in questo lavoro, ho potuto condurre un'analisi più accurata e fruttuosa delle formazioni periidiozomiche.

a fresco, credo probabile che i dittosomi abbiano abitualmente nel vivente rapporto più o meno intimo, in ogni stadio, colla periferia dell' idiozoma.

La reale esistenza delle individualità periidiozomiche — così come dei condriosomi — mi si è dimostrata fin da questo stadio, per mezzo dell'osservazione a fresco; su ciò insisteremo a proposito di uno degli stadii successivi del periodo auxocitario.

Mentre prosegue l'evoluzione dell'auxocita, si ha di pari passo un mutamento lento e graduale nell'aspetto dei condriosomi, determinato dall'allungamento di essi: dovuto codesto allungamento — io credo — ad un vero e proprio accrescimento interstiziale o terminale e non alla confluenza lineare dei brevissimi condrioconti preesistenti. Credo di poter categoricamente escludere quest'ultimo processo: in primo luogo perchè non ho mai incontrato dei condriomiti nel senso di Benda o, comunque, dei filamenti foggiati a linea tratteggiata; in secondo luogo perchè il numero assoluto dei condrioconti non mi sembra sensibilmente diminuito in confronto a stadii anteriori a questi. Piuttosto si è verificata, per l'aumento del citoplasma, una disseminazione dei condrioconti in esso (vedi fig. 5).

I condriosomi cominciano a raccogliersi prevalentemente nella zona paraidiozomica del protoplasma, in modo da fornire all'idiozoma un alone sferoidale. Lo strato più esterno del citoplasma rimane quasi privo di condriosomi.

Durante il lungo spazio di tempo interposto fra lo stadio della fig. 4 e la profase della prima divisione di maturazione, le formazioni dittosomiche subiscono dei cambiamenti pochissimo accentuati. La fig. 5, che riproduce un auxocita che si trova nello stadio dei filamenti cromatici sottili, illustra la posizione dei dittosomi a ridosso dell'idiozoma, e la loro forma di filamenti un poco più lunghi e più spessi di quelli raffigurati nella fig. 4. Oltre che dalla loro posizione più rigorosamente vicina che per l'addietro all'idiozoma, la distinzione di queste formazioni dalle condriosomiche è segnata, ancor più decisamente che negli stadii precedenti, dal loro calibro alquanto superiore a quello dei condriosomi.

Senza soffermarci a descrivere tutti gli stadii intermedii, che offrono grande interesse per lo studio dell'evoluzione cromatica, ma attraverso ai quali il condrioma e l'apparato periidiozomico si evolvono lentissima-

mente, veniamo a parlare senz'altro dell'auxocita nello stadio delle anse cromatiche spesse (bivalenti) orientate verso l'apparato centrale.

Il fatto più evidente che colpisce l'osservatore è il notevole allungamento subìto dai condriosomi, che posseggono ormai la forma di lunghi filamenti ad andamento rettilineo, rigidi, di calibro uniforme, raccolti all'intorno dell'idiozoma (vedi fig. 6). Il numero dei condrioconti sembra essere approssimativamente lo stesso di quello dello stadio già descritto; il loro calibro pure si è conservato inalterato. La direzione dei condrioconti rispetto all'idiozoma è disordinata; la lunghezza loro oscilla fra limiti piuttosto ristretti. Il numero dei condriosomi nei diversi elementi è sensibilmente costante — come si può arguire anche da un confronto delle due cellule riprodotte dalla fig. 6.

I filamenti periidiozomici sono più ordinatamente che per l'addietro disposti attorno all'idiozoma, in quanto sono in gran prevalenza diretti parallelamente alla superficie di esso. Inoltre i dittosomi tendono sempre più — e questa mi sembra che sia la loro caratteristica più saliente — ad assumere tutti una identica forma a bastoncino arcuato ad estremità appuntite.

Le figg. 7—9 si riferiscono ad auxociti al limite quasi estremo del periodo di accrescimento: in uno stadio cioè in cui le anse cromatiche bivalenti cominciano a perdere l'orientamento verso l'idiozoma, per orientarsi secondo una direzione che sta ad angolo retto con quella precedente (*bouquet* trasverso). Come risulta anche da un confronto fra le figure 6 e 7, i condrioconti hanno subìto un notevole incremento in lunghezza, mentre sono rimasti addensati attorno all'idiozoma. È questo lo stadio del periodo auxocitario nel quale l'analisi dei condriosomi ha potuto essere più minuta, per la relativa facilità colla quale questi ultimi si lasciano studiare sia a fresco che in preparati fissati.

Ripeto brevemente quanto ho altrove riferito ('12 a): che cioè, dall'esame a fresco mi sono convinto come la morfologia dei condrioconti (e dei dittosomi), quale appare nel materiale congruamente fissato che ha servito alle mie indagini, coincida perfettamente con l'aspetto che i medesimi organuli hanno nel vivente. A partire da questo stadio i condriosomi posseggono un notevole grado di rifrangenza e sono dotati di una certa consistenza in confronto al citoplasma ambiente — il quale si presenta sensibilmente omogeneo sia a fresco, che nei preparati fissati nei quali sono ben evidenti i condriosomi.

Converrà insistere alquanto sulla morfologia dei condrioconti a questo stadio, dappoichè essa si manterrà assolutamente costante per tutto il

periodo di maturazione e di trasformazione dello spermatide. Si tratta di filamenti piuttosto lunghi, al massimo poco più dei più lunghi condrioconti osservabili nelle fig. 7—9, spesso alquanto più brevi. Difficilissimo è stabilire i limiti entro i quali la lunghezza varia; io ritengo pertanto — anche per fatti rilevati *a posteriori* — che i limiti siano assai ristretti: molto più di quello che non mostrino le figure, nelle quali l'apparente svariatissima lunghezza dei condrioconti è determinata naturalmente dalla diversa prospettiva secondo la quale essi sono visti, oppure dall'essere stati mutilati più o meno profondamente dal taglio. Il calibro dei condrioconti è approssimativamente costante; le differenze che a volte si notano a questo proposito fra preparato e preparato (quasi mai negli elementi di una medesima sezione) sono da attribuirsi alle diversità di fissazione o di differenziazione dal colore.

In questo, come nei precedenti stadii, i condrioconti hanno una superficie assolutamente liscia e mai sono risolvibili in granuli nè a fresco nè previa fissazione, neppure cogli ingrandimenti più potenti nè con le più forti sorgenti di illuminazione. Questa constatazione porta naturalmente ad escludere nel nostro caso — come ho accennato più sopra — un processo di allineamento di granuli destinati a confluire; alla medesima conclusione ci inducono anche le osservazioni più sopra riferite sull'evoluzione dei condrioconti, che ci hanno dimostrato l'assenza di granuli condriosomici durante l'intero periodo auxocitario.

Il decorso dei condrioconti è nella maggioranza dei casi rettilineo; dal che deriva quell'aspetto rigido, come di ago, che i condriosomi posseggono: di un ago posseggono anche le estremità appuntite. Si mantengono indipendenti l'uno dall'altro lungo tutto il loro decorso; pur tuttavia si stabiliscono talvolta fra condrioconti vicini dei rapporti di contiguità che non sapremmo come interpretare. Si osservano cioè qua e là delle coppie di condrioconti paralleli e strettamente ravvicinati fra loro; altre volte due condrioconti convergono in modo da formare un angolo acuto, il cui vertice è costituito dalle estremità corrispondenti di due condrioconti — così vicine da toccarsi.

Come negli stadii precedenti, i condriosomi sono affollati in quella parte del citoplasma ove è situato l'idiozoma e lo circondano da ogni parte, pur essendo di solito scarsissimi o fin'anche assenti nello spazio (talora virtuale) compreso fra idiozoma e nucleo. La direzione che i condrioconti assumono rispetto all'idiozoma è svariatissima, e non ho potuto chiarire se prevalga la direzione radiale o tangenziale di fronte all'organo centrale; a volte si riceve l'impressione che i condrioconti siano in prevalenza diretti con una certa inclinazione armonica verso la periferia del-

l'idiozoma. La estremità dei condrioconti rivolta prossimalmente si arresta sempre ad una qualche — se pure piccolissima — distanza dall'idiozoma.

Inoltre, per quanto prevalentemente accumulati attorno all'idiozoma, taluni condrioconti sono talvolta situati anche nella porzione più periferica del citoplasma paraidiozomico, oppure anche nel sottile strato protoplasmatico che involge distalmente il nucleo. I condrioconti situati nello strato più periferico del citoplasma contiguo all'idiozoma, presentano a volte la particolarità di terminare obliquamente o perpendicolarmente in esatta corrispondenza della superficie cellulare — quasi inserendosi, per così dire, alla periferia citoplasmatica. Altre volte i condrioconti più periferici paraidiozomici sono diretti parallelamente alla periferia cellulare (vedi fig. 7).

Quello che andiamo descrivendo è lo stadio nel quale sono riuscito ad analizzare con maggior successo le formazioni periidiozomiche. Queste ultime hanno assunto ormai tutte la forma di filamenti arcuati, notevolmente più spessi nella loro parte centrale che non alle estremità, foggiati a colpo d'unghia, e come modellati alla periferia dell'ammasso idiozomico sferoidale.

Come per gli stadii precedenti, anche in questo l'esame sul vivente fornisce pei dittosomi dei dati, che collimano perfettamente con quelli desunti dallo studio dei preparati su cui sono fondate queste osservazioni.

L'aspetto sotto cui si presenta l'aggregato dei filamenti periidiozomici è naturalmente diverso, a seconda che la sezione comprenda solo la porzione equatoriale dell'idiozoma (vedi fig. 7) oppure comprenda in se un emisfero o una calotta dell'idiozoma stesso (vedi fig. 9). Le immagini che meglio danno idea della realtà sono evidentemente quelle che si hanno in quest'ultimo caso; però, per lo studio minuto degli organuli periidiozomici servono forse meglio le prime, più facilmente rinvenibili nelle sezioni molto sottili. L'indipendenza morfologica e la conseguente riconoscibilità dei dittosomi dai condriosomi, sono anche in questo stadio assolute; quasi mai si può restare in dubbio sulla vera essenza delle formazioni in esame. In questo momento evolutivo mai si trovano filamenti periidiozomici distanziati dalla sfera.

Riguardo al numero dei dittosomi, suppongo che esso sia approssimativamente costante nei diversi elementi e non si discosti dal numero che si riscontra in stadii antecedenti. Relativamente alla lunghezza dei dittosomi, riteniamo che essa non subisca variazioni notevoli; cause d'errore nel giudicare sia dello spessore che della lunghezza dei suddetti sono

sovente rappresentate dal vario grado di differenziazione dal colore, nonchè dal diverso angolo sotto il quale questi organuli si prospettano — quando siano visti di scorcio — all'occhio dell'osservatore.

3. Divisioni di maturazione.

Allorquando ha inizio la scissione longitudinale dei filamenti cromatici bivalenti nei futuri cromosomi delle diadi eterotipiche [vedi Terni ('11 a)], comincia la serie dei caratteristici spostamenti dei condriosomi, che si susseguono gli uni agli altri durante l'intero periodo delle divisioni di maturazione, costituendo una sorta di condriocinesi. L'esposizione del destino del condrioma nel corso di codesto periodo sarà possibilmente più esauriente di quel che non sia stato nella mia nota preliminare ('11 b) — specialmente per quel che riguarda il comportamento profasico dei condrioconti.

Confrontando fra loro le figure 7 e 10, il lettore si renderà chiaramente conto degli spostamenti subìti, all'approssimarsi della prima divisione maturativa, dai condriosomi. Questi ultimi sono venuti a situarsi in una posizione rispetto al nucleo e all'idiozoma che è per così dire la complementare di quella che antecedentemente possedevano.

Mentre per l'addietro la quasi totalità dei condrioconti era agglomerata in prossimità dell'idiozoma, mentre pochissimi ne esistevano a distanza da esso, ora si ha invece un affollamento dei condrioconti — ammettendo che nè nucleo nè idiozoma si sieno spostati nel frattempo — nella porzione di citoplasma dove prima i condrioconti erano scarsissimi e, viceversa, è rimasto quasi deserto il territorio paraidiozomico del citoplasma. Ritengo che questo fatto sia determinato da uno spostamento dei condrioconti, piuttosto che da uno spostamento dell'idiozoma attorno al nucleo o da una rotazione di quest'ultimo accompagnata da una traslazione dell'idiozoma. Questa mia opinione è principalmente fondata sulla constatazione che l'idiozoma rimane, durante il processo descritto, nella parte dell'auxocita nella quale il citoplasma è più abbondante; mentre i condrioconti al termine del processo stesso vengono a trovarsi situati nel sottile strato di citoplasma che involge distalmente il nucleo. Quivi i condrioconti sono stipati in una specie di coppa quasi emisferica nella quale è accolto il nucleo; nell'interno della coppa i condriosomi sono diretti in prevalenza concentricamente (quando siano un poco incurvati) o tangenzialmente (quando si mantengano rigidi) alla superficie del nucleo.

Il distanziamento dall'idiozoma non si effettua però rigorosamente per tutti i condrioconti: di essi alcuni rimangono in prossimità dell'organo

centrale, talvolta raccolti in maggior numero di quanto non mostri la fig. 10. I condriosomi hanno conservato la forma che possedevano alla fine del periodo di accrescimento; solo in numero un poco maggiore di prima sono incurvati leggermente, evidentemente per ragioni meccaniche determinate dallo stipamento in piccolo spazio di formazioni piuttosto lunghe. Nonostante però la forte agglomerazione dei condrioconti, questi ultimi conservano rigorosamente la loro reciproca indipendenza morfologica.

Nello stadio rappresentato nella fig. 10, i dittosomi sono ancora nettamente visibile e si presentano — come in passato — sotto forma di bastoncini arcuati. Per l'aumento in volume dell'idiozoma, che si è pian piano determinato (aumento che immediatamente precede il primo abbozzarsi nell'interno di esso del fuso centrale), i dittosomi sembrano essere sospinti dalla superficie dell'idiozoma stesso e, in conseguenza di ciò, si sono un poco distanziati l'uno dall'altro.

Con lo stadio illustrato dalla fig. 11 si è oltrepassato il periodo della cosiddetta tensione nucleare e il nucleo si è avvallato leggermente, in corrispondenza del suo polo prossimale, in una escavazione che accoglie l'idiozoma già notevolmente ingrandito. Nel nucleo sono già bene individualizzate le diadi cromosomiche eterotipiche[1]).

I condriosomi sono — come nello stadio or ora descritto — ancora in gran parte addensati attorno all'emisfero distale del nucleo, al quale

[1]) Come risulta dalla fig. 11, ciascun cromosomo figlio I profasico delle diadi eterotipiche, mostra a sua volta le tracce di una scissione longitudinale interessante i singoli cromioli, alla quale è dovuta la prima comparsa dei cromosomi figli II che si separeranno nella seconda divisione maturativa. Come è noto, codesto processo è stato osservato in un larghissimo materiale, specialmente di Invertebrati. Nel mio lavoro precedente ('11a) non ero riuscito ad osservare tanta precocità nella formazione dei cromosomi figli II, ma riconoscevo l'esistenza di questi ultimi solo a partire dall'inizio dell'anafase. Poichè la constatazione di una scissione profasica dei cromosomi figli I nei futuri cromosomi figli II ha una grande importanza, qualora la si consideri alla luce delle idee di Grégoire e degli Schreiner sul meccanismo della riduzione cromatica; ho voluto riferirne in questo lavoro — nel quale pur tuttavia non ci siamo occupati che del citoplasma e delle sue parti differenziate. Inoltre voglio far rilevare che, d'accordo con codesta scissione profasica, ho osservato talvolta nel comportamento delle estremità dei cromosomi profasici I di una stessa diade, degli intrecci che spiegano talune apparenze dei cromosomi metafasici eterotipici. Le modalità di questi intrecci corrispondono a quelle riconosciute anche in altro materiale gonocitario: ad alcune di quelle, per esempio, minutamente descritte da Granata ('10) nelle tetradi del *Pamphagus*.

formano la su descritta coppa: essa è divenuta assai più spessa nel suo fondo che non verso l'orlo; talchè, in sezione meridiana in rapporto al maggior asse dell'elemento, la coppa assume l'aspetto di una falce lunare. I condrioconti situati in prossimità dell'idiozoma sono alquanto aumentati in numero — evidentemente per il ritorno, nella loro sede primitiva, di alcuni dei condrioconti contenuti nell'orlo della coppa perinucleare condriosomica. Fin da questo momento comincia a delinearsi una certa tendenza alla direzione approssimativamente radiale rispetto all'idiozoma, dei pochi condriosomi che si trovano vicini a quest'ultimo.

Uno sguardo alla fig. 11 ci rivela che i dittosomi non sono più visibili. Infatti, allorquando la sfera ha raggiunto un considerevole volume, press'a poco corrispondente a quello che è rappresentato nella fig. 11, ho constatato che i filamenti periidiozomici cominciano a divenire irreperibili. Suppongo che essi vadano incontro ad una frammentazione o, meglio, ad uno sgretolamento; risultato del quale sono verosimilmente molti dei granuli i quali, di pari passo colla scomparsa dei dittosomi, divengono via via più numerosi nello strato periidiozomico del citoplasma.

Anche con l'esame a fresco mi sono reso conto della scomparsa di codesti organuli a partire dai primi momenti della profase; si aggiunga che ho osservato spesso delle forme che ritengo di transizione fra i dittosomi ed i granuli che da essi deriverebbero.

La fase della scomparsa dei filamenti dittosomici coincide con quella del maggior volume assunto dall'idiozoma per il delinearsi, nell'interno di esso, del fuso centrale teso fra i due centrioli.

Credo non inopportuno riprodurre una figura dalla quale appare chiaramente l'origine endoidiozomica del fuso centrale (vedi fig. 13bis); su tale processo intendo qui soffermarmi un poco, riferendo brevemente le opinioni di altri Autori in proposito.

Dalle ricerche di Rawitz ('96) non è possibile di farsi un'idea chiara dei precisi rapporti esistenti fra sfera centrale (idiozoma) e origine del fuso centrale negli spermatociti di *Salamandra*, dappoichè gli ammassi che secondo Rawitz darebbero origine ai corpuscoli polari e ulteriormente coopererebbero all'accrescimento del fuso, mi sembrano difficilmente identificabili colla sostanza costituente la sfera disgregata — come vuole l'autore. Il fuso avrebbe origine tuttavia nell'area di citoplasma concentrico contiguo all'idiozoma e, fin dal suo primo apparire, avrebbe le stesse dimensioni (almeno in lunghezza) del fuso metafasico. In un altro lavoro Rawitz ('98) afferma che la sfera attrattiva (idiozoma) degli auxociti di *Salamandra* non è un corpo compatto, ma è costituito da fini granuli situati attorno al nucleo, i quali alla profase si addensano ad un polo di quest'ultimo in una formazione affusata, che a poco a poco si trasforma

nel fuso acromatico; i corpuscoli polari di esso non deriverebbero da centrioli preesistenti (che non esisterebbero secondo l'Autore).

Però MEVES ('99a) oppone a queste idee che MOORE ('95) ha dimostrato l'esistenza di sfere compatte negli spermatociti appartenenti allo stesso materiale spermatogenetico usato da RAWITZ. MEVES ('96) nega, per gli spermatociti di *Salamandra*, che i frammenti nei quali si spezza nella profase l'idiozoma partecipino alla formazione del fuso; al contrario essi permangono come tali durante la mitosi, nella quale si ripartirebbero fra le due cellule figlie. Non avrebbe luogo la ricostituzione di un idiozoma compatto dopo l'espletamento della prima divisione maturativa. A me sembra che le figure 9 e 10 del lavoro di MEVES, tolte da profasi di grossi spermatogoni, dimostrino una almeno parziale origine endoidiozomica del fuso centrale.

Altri Autori parlano di una partecipazione dell'idiozoma (arcoplasma di taluni di essi) alla costituzione del fuso centrale, intesa nel senso di una diretta trasformazione dell'organo centrale stesso nelle fibre del fuso; così per esempio MOORE ('95) nella prima divisione maturativa degli Elasmobranchi, CALKINS ('95) nel Lombrico.

Mentre MEVES ('97b) riteneva che il disintegrarsi dell'idiozoma permettesse ai centrioli di liberarsi e di entrare in diretta unione colle radiazioni protoplasmatiche, per completare la figura acromatica già iniziata coll'abbozzarsi del fuso; LENHOSSEK ('98) descrive al contrario negli spermatociti del Ratto una uscita dei centrioli dalla sfera, la quale conserva la sua integrità fino alla metafase, si diffonde quindi nel citoplasma — per ricostituirsi poi in un corpo compatto negli spermatociti del secondo ordine. REGAUD ('10) divide le medesime idee di LENHOSSEK, nel suo studio sulla spermatogenesi dei Mammiferi.

Secondo MONTGOMERY ('98), l'idiozoma degli spermatogoni e degli spermatociti del primo ordine di *Pentatoma*, non prende parte alla formazione del fuso, poichè i centrioli emigrano dal loro involucro e le fibre acromatiche si tendono fra di essi, mentre si allontano l'uno dall'altro.

BOLLES LEE ('98, '02) ritiene — come abbiamo esposto altrove riferendoci a lavori precedenti ('95, '96) dello stesso Autore — che il *Nebenkern* dei Gasteropodi polmonati (idiozoma) sia un pacchetto di raggi fusoriali in degenerazione, che non ha nessun importante ufficio nell'economia degli spermatociti. BYRNES ('00) descrive l'abbozzo del secondo fuso di maturazione dell'uovo di *Limax* contenuto dentro una centrosfera, che è evidentemente un idiozoma. GURWITSCH ('00), studiando le divisioni oogoniali dei Mammiferi, suppone che dall'idiozoma derivi una parte o fors'anche l'intera figura acromatica.

Sostenendo l'origine endoidiozomica del fuso centrale, vengo ad ammettere che l'idiozoma abbia un importante ufficio nella formazione del fuso stesso: forse di significato assai più profondo che non quello di una semplice azione protettiva. Non ho però dati sufficienti per definire la portata reale della partecipazione materiale dell'idiozoma alla formazione del fuso centrale; credo tuttavia che la sostanza idiozomica non si esaurisca tutta nella produzione del giovane fuso centrale[1]), ma che di essa una parte permanga anche in stadii profasici assai avanzati. Vedremo che

[1]) In queste ricerche — come neanche nelle mie precedenti — non mi è riuscito di dimostrare l'esistenza dei due mezzi fusi periferici nella profase della prima divisione di maturazione.

in questi ultimi stadii (vedi figg. 12—15), i grossi granuli, derivanti dalla frammentazione dei dittosomi, situati in prossimità della periferia dell'idiozoma, vanno riducendosi in granuli via via più minuti di pari passo all'incremento del fuso e rimangono a formare un alone tutto all'intorno del fuso neoformato; nè sono ben separabili allora dai residui di sostanza idiozomica, che permangono ancora per lungo tempo.

Coll'inoltrarsi della profase della prima divisione di maturazione, il condrioma sottostà a interessanti modificazioni del suo assettamento. Nella fig. 12, nella quale le diadi eterotipiche hanno ormai il carattere di cromosomi definitivi, si vede che, pur persistendo una cospicua coppa condriosomica distale, un notevole numero di condrioconti è tornato ad affollarsi in prossimità dell'idiozoma — sfuggendo evidentemente dall'orlo della coppa stessa. Non però esclusivamente in quest' ultima guisa; perchè fin da questo stadio è cominciato il processo, che vedremo più pronunciato ulteriormente, del passaggio dei condriosomi dal fondo della coppa attraverso l'area prima delimitata dalla membrana nucleare, in direzione dell'idiozoma.

Fin da questo momento si determina adunque l'orientamento con sensibile prevalenza radiale dei condrioconti verso l'idiozoma; non tutti però sono ancora orientati: molti di essi sono ancora imprigionati entro la calotta perinucleare condriosomica. La disposizione radiale dei condrioconti attorno all'idiozoma è chiaramente riprodotto nella fig. 13, che è tolta da un elemento, tagliato perpendicolarmente al maggior asse, che si trova in uno stadio prossimo a quello della fig. 12.

La constatazione dell'orientamento profasico dei condrioconti verso l'idiozoma è un fatto sul quale conviene di soffermarci.

Mentre il rapporto che i condriosomi granulari contraggono coll'apparato centrale è stato assai studiato, specialmente da Benda ('03); i rapporti dei condrioconti — là dove si è dimostrato che sono tali — coll'apparato centrale della cellula (idiozoma, centrioli e relativamente corpuscoli polari) non sono che scarsamente conosciuti. Benda credeva che i mitocondri allineati costituissero i filamenti dell'aster protoplasmatico polare nelle mitosi spermatogoniali e spermatocitiche della *Salamandra*.

L'Autore che meglio ha visto dei condrioconti orientati verso il sistema centriolare[1]) è stato Meves ('10b), il quale, nelle cellule dello strato limitante linfatico del fegato larvale e nei grossi leucociti mononucleati di *Salamandra*, ha messo in evidenza dei condrioconti leggermente flessuosi, diretti radialmente verso la centroteca circon-

---

[1]) Anche Dubreuil ('11) illustra dei condrioconti in parte radialmente raccolti attorno alla «centrosfera» (idiozoma) in un fibroblasta di embrione di Montone. La concisione del testo e la figura appena schizzata lasciano incerti però sulla reale essenza dell' organulo centrale.

dante i centrioli, e situati fra mezzo alle radiazioni che in certi leucociti fanno capo ai centrioli e che sono ben conosciute per gli studii di M. HEIDENHAIN ('92). MEVES, anche in pubblicazioni precedenti ('07c, '08), riteneva che i condrioconti non rappresentino l'unica struttura filamentosa della cellula, ma che esistano accanto ad essi altri filamenti indipendenti dal condrioma, invisibili a fresco, i quali sono rappresentati dai raggi protoplasmatici che hanno capo ai centrioli delle cellule in divisione o anche in riposo. A questi ultime formazioni MEVES ('08) propose di riservare il classico nome di «massa filare» o «mitoma». Su questo modo di vedere ritorna MEVES anche in un lavoro più recente ('12b) e insiste sulla convinzione che i condriosomi siano sempre contenuti fra le radiazioni protoplasmatiche — come appunto avviene nei leucociti di *Salamandra* ('12, fig. I nel testo) oppure nelle mitosi di cellule connettivali dell'embrione di Pollo ('12, fig. II nel testo)[1]).

Quantunque io non sia riuscito a dimostrare nell'auxocita profasico delle radiazioni protoplasmatiche così evidenti quali sono, per esempio, quelle dei leucociti di *Salamandra* [HEIDENHAIN ('92)] o quelle degli spermatociti di *Salamandra* [MEVES ('96)]; pure nei preparati trattati coi comuni liquidi osmici che servirono alle mie ricerche sulla spermatogenesi del *Geotriton* ('11 a) (nei quali il protoplasma assume una struttura filamentoso-reticolare), esiste nella profase di maturazione un deciso orientamento radiale delle trabecole citoplasmatiche (vedi fig. 13bis) verso la superficie dell' idiozoma — in corrispondenza della quale superficie le trabecole stesse si arrestano, come inserendovisi[2]).

Questo irraggiamento protoplasmatico non si lascia apprezzare nelle cellule sottoposte ad un trattamento atto a mettere in evidenza i condrioconti; in esse — come abbiamo sopra veduto — il protoplasma interposto ai condriosomi appare di struttura omogenea: di identico aspetto cioè a quello che presenta nell'esame a fresco (vedi TERNI '12a), col quale non è apprezzabile nessuna struttura filamentosa all' infuori dei condrioconti.

Per quanto adunque io non sia riuscito a dimostrare contemporaneamente radiazioni protoplasmatiche e condrioconti, in modo da poter in modo assoluto escludere una qualsiasi identità fra i due ordini di formazioni; ciò nonostante ritengo che si tratti di organi distinti: gli uni (condrioconti) visibili anche a fresco, gli altri (raggi) rivelabili solo con un opportuno trattamento tecnico. Un confronto fra le figure 13 e 13bis persuaderà sulla fondatezza della mia opinione. I condrioconti sono assai più brevi

---

[1]) WEBER ('13) ha recentemente descritto, nei leucociti di *Gongylus*, dei condriosomi talvolta filamentosi radialmente orientati attorno alla sfera attrattiva (idiozoma); i condriosomi stessi riposerebbero sui fini filamenti dell'aster, poco nitidamente dimostrabili.

[2]) Al contrario cioè di quanto hanno veduto HEIDENHAIN ('92) e MEVES ('10b) nei leucociti di *Salamandra*, DRÜNER ('95) negli spermatogoni — i quali Autori ammettono che i raggi protoplasmatici facciano capo ai centrioli.

infatti dei raggi protoplasmatici, i quali si spingono dal contorno dell'idiozoma fino alla periferia cellulare; il numero dei primi è incomparabilmente minore di quello dei secondi, i quali costituiscono quasi l'intera massa del citoplasma — sì da rappresentare una vera e propria struttura di quest'ultimo. Inoltre l'orientamento dei condrioconti non è rigoroso come quello delle trabecole citoplasmatiche.

Relativamente al meccanismo mediante il quale si determinano le manovre profasiche di orientamento dei condrioconti e di assettamento radiale del citoplasma, e relativamente alla questione se l'una manovra possa aver influenza sull'altra, non vogliamo qui discutere, perchè ci mancano i dati su cui basarci; solo voglio insistere su di un fatto che credo importante: la constatazione cioè della coincidenza nel tempo fra il determinarsi dell'orientamento in senso radiale dei condrioconti e il primo apparire delle radiazioni citoplasmatiche periidiozomiche.

Con l'inoltrarsi della profase, noi vediamo accentuarsi il processo, già prima iniziato, della fuoruscita dal fondo della coppa condriosomica di alcuni condrioconti, che si spostano verso l'idiozoma passando attraverso all'area per l'addietro ben delimitata dalla membrana nucleare. La fig. 14 mostra, in confronto alla fig. 12 (più sopra presa in esame), un progresso nell'attività migratoria dei condrioconti, i quali, non appena hanno abbandonato lo strato condriosomico periferico nel quale erano allogati, si dirigono — disponendosi col loro asse nel senso della traiettoria loro — verso l'idiozoma, nel quale già si è delineato il fuso centrale (invisibile però nella fig. 14). I condrioconti si avviano verso l'idiozoma, passando fra i cromosomi profasici che sono ormai liberi nel citoplasma.

Di pari passo colla disintegrazione della coppa condriosomica e il susseguente orientamento radiale di nuovi condrioconti attorno all' idiozoma, quest'ultimo viene a poco a poco a trovarsi situato più profondamente nell'elemento profasico, fino ad assumere una posizione quasi centrale nel citoplasma.

I cromosomi si sono nel frattempo sparsi nel citoplasma e si sono disposti concentricamente all'idiozoma — come è visibile nella fig. 15 (nella quale, colla tecnica seguita, non fu possibile di mettere in evidenza il fuso centrale endoidiozomico[1]). Negli interstizii fra i cromosomi sono situati i condrioconti, alcuni dei quali arrivano fino alla periferia cellu-

[1]) Nei preparati che servono alla dimostrazione dei condriosomi, è possibile di mettere chiaramente in evidenza il fuso centrale solo allorquando esso è già assai evoluto.

lare; i loro caratteri morfologici si mantengono al solito identici a quelli degli stadii antecedenti.

Nella fig. 15 si nota la presenza di uno straterello di materiale granuloso applicato contro la periferia cellulare, nel quale appaiono indecisamente alcuni condrioconti. Ritengo probabile che questa formazione — che si incontra assai spesso — rappresenti il residuo della primitiva calotta condriosomica, disintegratasi per la diffusione nel citoplasma degli organuli che conteneva.

Continua frattanto l'incremento in grandezza del fuso; parallelamente a ciò si comincia a notare un perturbamento nella direzione prevalentemente radiale dei condrioconti attorno all'organo suddetto. Si osserva cioè che i condrioconti tendono a raggrupparsi in prevalenza ai poli del fuso (vedi fig. 16) e ad orientarsi verso i corpuscoli polari, pur rimanendo sparsi in un certo numero per tutto il citoplasma.

Ormai comincia l'apposizione dei cromosomi eterotipici al fuso centrale che si è rapidamente ingrandito (vedi fig. 17); i condrioconti non subiscono notevoli spostamenti dallo stadio or ora descritto. Nella fig. 17 si vedono alcuni condrioconti sovrapposti al fuso: mai essi — nè in questo nè in stadii ulteriori, sia della prima che della seconda divisione — invadono il territorio occupato dal fuso. Sussiste adunque la regola della impenetrabilità del fuso da parte dei condrioconti. Abbiamo visto del resto che ciò vale anche per l'idiozoma, in ogni momento della vita cellulare.

Il processo mitotico incalza; siamo già in piena metafase: le diadi eterotipiche sono già apposte al fuso nel piano equatoriale (vedi fig. 18) e i condriosomi sono sparsi nel citoplasma, prevalentemente accumulati ai poli e con spiccata tendenza all'orientamento verso di essi[1]).

Al termine della metafase, col primo accenno dell'anafase, ha inizio la parte della tattica condriosomica che costituisce la parte più saliente delle mie osservazioni. Non appena i cromosomi figli I si distaccano l'uno

[1]) Per i rapporti topografici fra condrioconti ed aster protoplasmatici polari — da me visti, questi ultimi, ed illustrati precedentemente ('11a) — valgano le stesse considerazioni da me fatte per le radiazioni profasiche. Aggiungo qui che la coincidenza da me rilevata fra orientamento dei condrioconti verso i corpuscoli polari e comparsa degli aster protoplasmatici polari, mi sembra che confermi la supposizione ammessa da Meves ('97b, '99a), d'accordo con numerosi Autori e successivamente da diversi altri confermata, che i raggi polari facenti capo ai centrioli siano neoformati durante la mitosi: non derivino cioè da una struttura filare preesistente.

dall'altro in ogni diade eterotipica (svolgendo i loro attorcigliamenti terminali o discontinuando le loro temporanee saldature) e cominciano a risalire ai poli (già completamente scissi, dalla fenditura che abbiamo visto accennata fin dalla profase, nei cromosomi figli II), i condrioconti cominciano a spostarsi (fig. 19) secondo le norme seguenti:

Dalla primitiva posizione prevalentemente polare che occupavano, i condrioconti vanno pian piano emigrando verso il piano equatoriale della figura cinetica; nella loro traslazione, essi si mantengono col loro asse diretto secondo la lunghezza del fuso. La fig. 20 illustra come i gruppi di condriosomi prima situati polarmente, tendano a confluire nello spazio di citoplasma che circonda il fuso nella sua porzione paraequatoriale e come, per far ciò, i condrioconti si spostino mantenendosi paralleli alle fibre mantellari (invisibili nelle figure) delle due metà del fuso, e cioè: leggermente inclinati dall'interno e dall' alto (o dal basso) verso l'esterno.

In tale dislocazione i condrioconti seguono uno spostamento antagonistico a quello subìto dai cromosomi. In più codesta traslazione è approssimativamente sincrona con quella dei cromosomi; infatti — come si vede nella fig. 22 — l'accumulo dei condrioconti nel piano equatoriale della figura acromatica è quasi compiuto, allorchè i cromosomi hanno raggiunto i poli del fuso.

La fig. 21 riproduce una ascesa polare delle dodici coppie di cromosomi II, dominata dal piano equatoriale, in un elemento che è colpito dal taglio in corrispondenza di quest'ultimo; in tale figura si vedono i condrioconti sorpresi in un momento della loro traslazione che di poco precede lo stadio della fig. 20, e si ha un idea approssimativa del loro numero.

Nel momento in cui si determina il primo accenno al solco equatoriale che dividerà il citoplasma, i condrioconti sono quasi tutti orientati nel piano equatoriale all'intorno del fuso centrale. La fig. 23 è tolta da un elemento anafasico in cui è appena iniziato lo strozzamento annulare del citoplasma (la sezione è perpendicolare all'asse del fuso e comprende in sè la porzione dell'elemento attigua al solco equatoriale) e mostra il mantello perifusoriale dei condrioconti, molti dei quali veduti in sezione ottica.

Tanto rapidamente si determina la divisione del corpo cellulare e incalza essa sì dappresso nella eterotipia la manovra di orientamento dei condrioconti, che non mi è stato possibile di accertarmi recisamente del fatto che sono portato a supporre: che cioè tutti i condrioconti

4*

si trovino ad un dato momento colla loro porzione media posta nel piano equatoriale.

Coll'effettuarsi della separazione dei citoplasmi delle due cellule figlie, ci troviamo nel culmine della tattica dei condrioconti, rappresentata dalla loro divisione trasversale nel piano equatoriale della figura cinetica. Mentre però non per tutti i condrioconti situati più perifericamente ho potuto in via di assoluta certezza dimostrare una divisione trasversale, per quelli situati più profondamente (in vicinanza cioè del fuso centrale) ho invece potuto convincermi di un tal fatto.

Per i condriosomi che si trovano situati in quest'ultima posizione, vi è tempo sufficiente per osservare il rigoroso orientamento prima che arrivi fino a loro l'invaginazione della membrana cellulare; mentre invece per i condrioconti situati più vicino alla periferia cellulare suppongo che la scissione in due metà trasversali avvenga istantaneamente dopo che essi si sono orientati nel futuro piano divisorio dei citoplasmi. In tal modo, se per la prima categoria dei condrioconti vi è agio di osservare distintamente il conseguimento della posizione opportuna per una divisione trasversale — per i secondi invece (quelli cioè situati più superficialmente nella cellula), fra orientamento e divisione non intercede il tempo necessario alla dimostrazione obbiettiva del loro comportamento, forse simile a quello della prima categoria di condrioconti.

La fig. 24 mostra palesemente la disposizione rigorosamente equatoriale dei condrioconti contigui al fuso (molti dei quali appaiono nella figura stessa sovrapposti ad esso).

Un altro fatto che ho accertato (e che contribuisce a rendere difficile la dimostrazione obbiettiva della divisione trasversale di tutti quanti i condrioconti) è che le due metà trasversali di molti dei condrioconti si allontanano l'una dall'altra non appena separate. Si può arguire codesto processo da un esame della fig. 24, nella quale noi vediamo dei condrioconti evidentemente già divisi che si sono già allontanati alquanto dal piano equatoriale divisorio. In stadii anafasici un poco più precoci di quello della figura suddetta (in un momento cioè nel quale è ancora assente ogni traccia di solco divisorio, ma che precede immediatamente un tal processo) è però da escludere che esistano dei condrioconti situati a notevole distanza dal piano equatoriale.

La ragione per la quale molto spesso i condrioconti appaiono — ancor prima di esser divisi — notevolmente più brevi (vedi fig. 24) che non in stadii precedenti, è rappresentata dall'incurvamento che i condrioconti molto spesso mostrano immediatamente prima della loro divisione

trasversale: per modo che, se visti in proiezione, appaiono tanto più corti quanto più sono incurvati.

La fig. 25 illustra un momento appena successivo allo stadio della fig. 24, nel quale i condrioconti sono già quasi tutti divisi. Nello stesso elemento si osserva un fatto (che anche più spiccato appare nella fig. 26) apparentemente contrario all'asserzione di una divisione trasversale dei condrioconti: il fatto cioè che i condrioconti emersi dalla divisione sono assai più lunghi della metà delle lunghezze apparenti dei condrioconti metafasici. Io sono propenso a ritenere (in via naturalmente congetturale) che ciò dipenda dalla proprietà che avrebbero i condrioconti di accrescersi in lunghezza immediatamente dopo la loro divisione. Rammentando l'allungamento progressivo che abbiamo ammesso per i condrioconti del periodo di accrescimento, non ci sembra improbabile il verificarsi di codesto processo. Del resto noi non abbiamo alcun dato sicuro per asserire (almeno per la mitosi eterotipica) che la divisione avvenga nella parte esattamente centrale di tutti i condrioconti; invero una divisione ineguale potrebbe dare origine a dei condrioconti figli di dimensioni superiori a quelle che avrebbe la metà esatta di un condrioconto indiviso.

Un' altra causa che ci potrebbe far errare nel farci supporre una diversità notevole fra la lunghezza di un condriosoma figlio e la lunghezza della metà di un condriosoma non ancora diviso, può esser costituita dal fatto che nelle sezioni non si ha mai (data la loro relativa sottigliezza, compatibile con una netta dimostrazione dei condriosomi) l'esatta nozione della lunghezza dei condrioconti e che i filamenti più lunghi sono più facilmente frazionati dal taglio che non i condrioconti più brevi. Con ciò vogliamo concludere che l'apparente eguale lunghezza dei condriosomi-padre e di quelli che secondo noi sono i condriosomi-figlio, non è di ostacolo alla nostra asserzione della divisione trasversale dei primi. Vedremo come codesto processo si effettui con particolare evidenza nella seconda divisione di maturazione. Del resto non posso obbiettivamente escludere in via assoluta che qualche condrioconto non passi indiviso in una delle cellule figlie.

Proseguendo l'invaginazione annulare della membrana cellulare, si effettua di pari passo la divisione trasversale dei condrioconti situati via via più profondamente — fino a che la divisione interessa anche quelli situati in immediata vicinanza del fuso centrale strozzato dal progredire del solco divisorio. La fig. 26 riproduce un'anafase inoltrata, nella quale è completa la separazione dei condrioconti delle due cellule figlie; nè è più possibile in essa di vedere condrioconti che si continuino indivisi

attraverso l'anello citoplasmatico ormai sottile che, sovrapposto concentricamente al residuo del fuso, riunisce ancora le due cellule figlie.

La fig. 28 mostra tre diversi momenti anafasici di elementi che si trovavano vicini l'uno all'altro nella medesima ampolla testicolare: dimostra la regolarità colla quale si compie il processo condriocinetico, così come la completezza e la costanza della messa in evidenza dei condriosomi.

Mentre i condrioconti che si sono divisi per i primi (cioè quelli situati più perifericamente) perdono immediatamente dopo la divisione l'orientamento loro equatoriale e si sparpagliano disordinatamente nella porzione di citoplasma che sta in contiguità del piano di separazione delle due cellule figlie; i condrioconti situati più profondamente conservano invece il loro orientamento caratteristico, come a clessidra, all' intorno del residuo fusoriale: orientamento che è già apprezzabile nello stadio della fig. 26. Questa persistenza nell' orientamento di un certo gruppo di condrioconti si mantiene durante la telofase; un esempio di ciò è fornito dalla fig. 27, nella quale alcuni condriosomi, ancora orientati, aderiscono alla superficie esterna del residuo fusoriale, assottigliato e fornito di un netto corpo intermedio.

Questo rapporto è però di sola contiguità: i condrioconti sono assolutamente indipendenti dal residuo fusoriale, al quale sono semplicemente sovrapposti, e dal corpo intermedio — ad una certa distanza dal quale si sono ormai ritirati i condrioconti, per approfondirsi nello spessore della zona di citoplasma prossima alla membrana cellulare divisoria.

Più tardi anche i condriosomi della clessidra perifusoriale perdono il loro orientamento caratteristico e si confondono cogli altri condriosomi.

I granuli che, come abbiamo visto, rappresentano i detriti della porzione di idiozoma che non ha partecipato alla formazione del fuso e il prodotto ultimo della frammentazione dei dittosomi, sono ancora visibili nella metafase e nell'anafase in corrispondenza dell'equatore e spesso in prossimità dei poli della figura cinetica. Specialmente gli ammassi granulari equatoriali sono ben visibili (anche a fresco) e segnano nettamente la regione nella quale avverrà lo strozzamento del citoplasma. Questo processo, effettuandosi, determina la divisione in due parti degli ammassi suddetti.

A telofase inoltrata ho osservato una formazione enigmatica, alla quale non ho saputo quale significato assegnare; si tratta di una sottile lingua citoplasmatica, che si distacca nel piano equatoriale dal corpo delle cellule figlie, nella quale lingua si insinuano numerosi condrioconti

(vedi fig. 27). Questa formazione conserva per breve tempo i caratteri coi quali l'abbiamo descritta[1]).

Durante la telofase si hanno dei mutamenti nei reciproci rapporti fra le varie parti contenute nella cellula, che non abbiamo avuto agio di seguire minutamente nella prima divisione; descriveremo questi spostamenti (ammesso pure che vi sia fra le due divisioni identità riguardo a questo processo) nella seconda divisione, dove sono particolarmente chiari ed istruttivi. Veniamo invece senz'altro ad illustrare lo stadio della fig. 29, il quale appartiene ormai al periodo intercinetico: la figura rappresenta cioè due giovanissimi spermatociti del secondo ordine.

I condriosomi sono tutt'ora raccolti in corrispondenza dell'antico piano equatoriale, in una zona limitata del citoplasma che fa prominenza in un cono, del quale non saprei escludere il rapporto genetico colla sottile lingua citoplasmatica, nella quale abbiamo visto durante la telofase insinuarsi numerosi condrioconti. Nel cono condriosomico (che è di solito assai più allungato di quel che non sia raffigurato nella fig. 29) sono affollati i condrioconti, diretti in prevalenza parallelamente all'asse del cono.

Al polo opposto del nucleo esiste l'idiozoma, alla cui periferia vanno ricomponendosi i filamenti periidiozomici; in vicinanza dell'idiozoma giunge una estremità del residuo fusoriale.

Nello spermatocita del secondo ordine, che si avvicina, attraverso al breve periodo intercinetico, alla profase della seconda divisione maturativa, l'accumulo conico dei condrioconti, che abbiamo descritto, ben presto si deprime al suo apice, riducendosi ad una coppa quasi emisferica che accoglie nella sua concavità l'emisfero nucleare opposto all'idiozoma; questa coppa è simile a quella che abbiamo incontrato nell'auxocita vicino alla profase.

Questo speciale assettamento del condrioma è visibile nella fig. 30, la quale dimostra come l'addensamento dei condrioconti nel sottile strato citoplasmatico che abbraccia distalmente il nucleo sia rigoroso, poichè nessuno dei condrioconti rimane nella porzione di citoplasma raccolto in maggior copia al polo prossimale.

[1]) Una particolarità forse paragonabile a questa è stata osservata da Montgomery ('11), il quale ha descritto e raffigurato, nelle due divisioni spermatocitiche di *Euschistus*, delle protuberanze del citoplasma, nelle quali sono spesso contenuti dei condrioconti (non sempre) e che, secondo Montgomery, non sono certamente dovute a compressioni esercitate dalle altre cellule, ma forse a movimenti pseudopodici dei citoplasmi.

L'aspetto dei dittosomi, all'approssimarsi della seconda profase (vedi fig. 30) diviene distintissimo e appare straordinariamente simile a quello dei dittosomi dell'auxocita. Questi organuli sono in numero sensibilmente minore che non nel periodo di accrescimento e — pur essendo situati all'intorno dell'idiozoma — non contraggono con esso dei rapporti molto intimi di contiguità.

All'inizio della profase — nello stesso modo come nella prima divisione — i filamenti dittosomici si sgretolano e sembrano così perdere la loro individualità morfologica. Questo fatto si compie parallelamente all'incremento in grandezza dell'idiozoma; in esso non siamo però stati in grado di dimostrare il primo delinearsi del fuso centrale, come abbiamo fatto per la prima divisione. Pur tuttavia nelle mie ricerche pregresse ('11a) ho dimostrato l'esistenza dei corpuscoli centrali entro l'idiozoma profasico; allorquando però il fuso è dimostrabile, il contorno dell'idiozoma non è più nettamente delineato.

Riprendiamo lo studio dei condriosomi e seguiamone il comportamento durante la mitosi omeotipica. Il processo è nelle sue linee essenziali identico a quello che si compie nella prima divisione. Per un certo tempo i condrioconti rimangono stipati nella coppa perinucleare (vedi fig. 31); appena il limite fra nucleo e citoplasma non è più apprezzabile, essi passano negli intervalli fra i cromosomi ormai emancipati nel protoplasma ambiente, per dirigersi radialmente verso l'idiozoma già ingrandito considerevolmente (fig. 32). Nella fig. 33 è assai spiccata la prevalente direzione in senso radiale dei condrioconti verso il centro dell'elemento profasico — dove già esiste ben delineato il fuso.

Anche negli stadii ulteriori della mitosi i condrioconti (i quali conservano gli identici caratteri che avevano nella eterotipia) si comportano secondo un determinismo identico a quello che seguono nella prima mitosi. La fig. 34 riproduce uno stadio assai avanzato della profase, nel quale i condrioconti cominciano a perdere l'orientamento radiale; colla fig. 35 siamo ormai in piena metafase, allorquando i condrioconti sono prevalentemente accumulati ai poli della figura cinetica. Successivamente si effettua la discesa dei condrioconti dai poli verso il piano equatoriale, sincrona all'ascesa polare anafasica dei cromosomi figli II (fig. 36). L'impenetrabilità del fuso da parte dei condriosomi è al solito assoluta.

L'ordinamento dei condrioconti nel piano equatoriale è molto più rigoroso e completo che non nella prima divisione; la facilità colla quale si possono incontrare immagini simili alla fig. 37 è verosimilmente legata al relativo ritardo (in rapporto all'ordinamento equatoriale dei condrio-

somi) col quale ha inizio lo strozzamento equatoriale della membrana cellulare. La figura stessa mostra una disposizione tipica dei condrioconti, che si trovano colla loro parte centrale ad esatto livello del piano equatoriale; è particolarmente istruttiva la posizione dei condrioconti che appaiono sottoposti al fuso centrale.

Allorquando ha inizio il solco equatoriale, i condrioconti si inflettono in un primo tempo ad arco; in un secondo tempo si dividono trasversalmente. Nell'elemento da cui fu tolta la fig. 38, la divisione trasversale dei condrioconti non era ancora completa, poichè nella parte più profonda della clessidra perifusoriale esistevano ancora dei filamenti che passavano indivisi da una cellula all'altra. In questo stadio si apprezzano facilmente dei condrioconti già divisi, ma di cui è possibile di rintracciare per ciascuno le due metà corrispondenti. Nello stadio telofasico riprodotto dalla fig. 39 i condrioconti sono già quasi tutti divisi; quelli situati più perifericamente rispetto al residuo fusoriale (che è nascosto dai condrioconti) cominciano già a spargersi disordinatamente nella zona contigua al piano divisorio della mitosi. Per qualche tempo ancora invece, i condrioconti direttamente sovrapposti al residuo fusoriale, rimangono ad esso aderenti nel tipico atteggiamento illustrato dalla fig. 40. In questa figura l'indipendenza dei condrioconti dal residuo fusoriale e dal corpo intermedio è evidente. Poco dopo, anche i condriosomi che costituiscono la clessidra perifusoriale perdono il loro orientamento e si confondono cogli altri condrioconti. In corrispondenza del piano equatoriale esiste, a telofase inoltrata (fig. 40), una lingua di citoplasma appuntita (simile a quella descritta nella telofase della eterotipia) nella quale si insinuano numerosi condrioconti.

Analogamente a quanto si è visto nella prima divisione, in prossimità della periferia cellulare esistono, in corrispondenza del piano equatoriale metafasico, degli ammassi di granuli, i quali vengono suddivisi fra i due spermatidi dal solco divisorio del citoplasma. Può darsi che questi granuli abbiano lo stesso significato di quelli analoghi più su descritti nella prima mitosi di maturazione.

A telofase inoltrata della seconda divisione è assai chiaramente apprezzabile la prima comparsa dell'idiozoma e dei suoi annessi. La fig. 41 coglie appunto un momento assai caratteristico del riabbozzarsi dell'idiozoma che — come per la prima divisione — si delinea in corrispondenza del primitivo polo della figura cinetica. La posizione costante nella quale si individualizza l'idiozoma, mi fa ritenere che esista un qualche

rapporto fra la porzione polare delle fibre acromatiche del fuso (forse mantellari) e la formazione dell'idiozoma stesso[1]).

Però, il non aver potuto seguire le sorti del corpuscolo polare e del suo eventuale sdoppiarsi nei centrioli dell' intercinesi (prima divisione) e dello spermatide (seconda divisione), mi ha tolto la possibilità di decidere quale sia la portata reale della suddetta trasformazione.

La prima comparsa dei dittosomi si determina poco dopo l'individualizzarsi telofasico, in seno al protoplasma, dell'idiozoma. Non escludo che essi traggano origine dai granuli che — come sopra ho esposto — stanno a rappresentare, durante la cinesi, i filamenti periidiozomici sgretolati. Fin dal loro primo abbozzarsi in brevi e tozzi filamenti, questi organuli si distinguono per la loro tendenza a disporsi all'intorno dell'idiozoma, che va organizzandosi in un ammasso sferoidale compatto.

Nella seconda divisione, allo stesso modo forse che nella prima, ma assai più chiaramente che in essa, si compie, durante la telofase inoltrata, un graduale cambiamento dei reciproci rapporti di posizione fra idiozoma (e annessi) e residuo fusoriale, che merita di essere illustrato.

Un esame della fig. 41 fornirà al lettore la rappresentazione del processo che ora mi accingo a descrivere. Il residuo fusoriale, una volta liberatosi della clessidra condriosomica, viene a poco a poco a trovarsi in prossimità degli idiozoma delle cellule figlie. Immagino che ciò avvenga per il ruotare sincrono e in senso inverso delle due cellule figlie intorno ad un asse immaginario che passa per il loro centro — mentre che il residuo fusoriale non muterebbe posizione rispetto allo spazio.

Per quanto possa sembrare strano che la parte più periferica del citoplasma si lasci attraversare dal cilindro fusoriale, pure non posso altrimenti che così spiegarmi quello che si osserva — dato che ammasso dei condriosomi, direzione assile dei cromosomi telofasici e idiozoma rimangono situati, durante la telocinesi, su di una stessa retta. Volendo fare un semplice paragone fisico, si può rievocare il fenomeno del rigelo, che permette ad un filo — quando sia tratto con una certa forza — di passare lentamente attraverso ad un blocco di ghiaccio, senza lasciar dietro a sè soluzione di continuo.

---

[1]) Secondo Meves ('99a) l'idiozoma delle cellule figlie non avrebbe nessun rapporto con quello della cellula madre, ma si neoformerebbe — dopo ogni mitosi — a spese di una sostanza contenuta fra le fibre fusoriali. Platner ('89b) ammetteva invece la provenienza di una formazione riconducibile all'idiozoma, dall'estremità polare dei filamenti del fuso.

Quale sia nel nostro caso la trazione che determina l'avvicinamento del residuo agli idiozomi (i quali farebbero — secondo la nostra interpretazione — corpo col protoplasma) non sapremmo dire: può darsi che il residuo fusoriale sia in continuazione degli idiozomi per mezzo di fibre superstiti del fuso (che però non mi è riuscito di mettere in evidenza): un irrigidimento di queste supposte fibre potrebbe determinare il descritto avvicinamento del residuo equatoriale del fuso all'idiozoma.

Credo debba escludersi la possibilità che, nei movimenti telofasici che andiamo descrivendo, siano il nucleo e l'idiozoma ai spostarsi entro il citoplasma, poichè in tal caso i condrioconti dovrebbero sincronicamente spostarsi in massa per rendersi antipodici alla posizione dell'idiozoma: condizione questa che ritengo inverosimile. Un' altra ragione che mi rende incredulo su di una possibile rotazione del nucleo che accompagni la traslazione intracitoplasmatica dell'idiozoma, mi sembra sia rappresentata dal fatto che quest'ultimo, fin dal suo primo sorgere, si trova ad una notevole distanza dalla periferia del nucleo; cosicchè l'idiozoma è lungi dall'avere col nucleo rapporti tali di contiguità, da poterlo trascinare col suo eventuale moto.

Gli Autori che hanno descritto una rotazione telocinetica del nucleo, hanno invero ammesso che l'apparato centrale avesse intimo rapporto topografico col nucleo; così Moore ('95) negli spermatogoni di Elasmobranchi e Lauterborn ('96) nelle Diatomee, hanno descritto una rotazione telofasica del nucleo e dei centrosomi (centrioli) che giacciono in una insenatura di quest'ultimo. Negli spermatociti di Elasmobranchi Moore ('95) ha osservato poi uno spostamento telofasico dei soli centrioli, involti da un involucro arcoplasmatico (idiozoma), attorno alla superficie del nucleo; parimenti Meves ('96) negli spermatogoni grandi e piccoli e negli spermatociti di *Salamandra*: in questi ultimi lo spostamento dei centrioli è accompagnato dall'evoluzione di complesse radiazioni che da essi si dipartono.

Solo v. Erlanger ('96e; 97b) e Kostanecki ('97a) hanno osservato una rotazione telofasica, di 90° e più, delle cellule figlie: il primo, nell'epitelio branchiale delle larve di *Salamandra* e nella prima divisione maturativa della *Blatta*; il secondo, nelle uova in segmentazione della *Physa f.*. —

Sono adunque propenso a ritenere — per le ragioni che ho sopra esposto e che sono quelle che tentano di spiegare il fenomeno nel modo che mi sembra più semplice e razionale — che avvenga una rotazione in senso inverso delle due cellule figlie telofasiche attorno ad un asse centrale immaginario, mentre il residuo fusoriale conserva fissa nello spazio la sua posizione.

La rotazione ha termine quando l'idiozoma, che è l'indice più evidente del movimento in questione, ha percorso un intero quadrante e si è venuto a porre in immediata vicinanza di una estremità del residuo fusoriale (vedi fig. 42).

4. Istogenesi dello spermatozoo.

Collo stadio riprodotto nella fig. 42 sono terminati gli spostamenti telocinetici delle cellule figlie (spermatidi). I condrioconti sono stipati nel cono protoplasmatico situato al polo distale del nucleo (che si avvia verso lo stato di riposo) in una zona, la quale — da quanto abbiamo altrove esposto — deve ritenersi come topograficamente corrispondente al piano equatoriale. È possibile che la digitazione protoplasmatica che abbiamo visto formarsi nella telofase a livello del piano equatoriale sia collegata geneticamente al cono infiltrato di condrioconti che andiamo descrivendo. Quivi i condriosomi sono diretti nelle guise più svariate; predomina tuttavia l'orientazione secondo l'asse del cono suddetto. (L'apparente maggior quantità dei condriosomi esistenti nella fig. 42 in confronto alla fig. 41, è determinata dalla circostanza che in quest'ultima la sezione interessa incompletamente il piano equatoriale ove è accolto il condrioma.)

Nella fig. 42 si vedono gli idiozomi[1]) di una coppia di spermatidi, a livello dei quali è teso il residuo fusoriale provvisto del corpo intermedio; i due idiozomi sono già perfettamente ricostituiti ed appaiono assai più piccoli di quelli intercinetici. Alla loro periferia sono situati i brevi filamenti arcuati (dittosomi), simili a quelli che abbiamo descritto altrove, i quali, fin dal loro primo apparire, contraggono un intimo rapporto colla superficie della sfera. Il loro numero è notevolmente minore di quello dello spermatocita del secondo ordine — il quale era a sua volta assai più ridotto del numero dei dittosomi auxocitarii.

Superata la telofase, si ha uno stadio che è riprodotto nella fig. 43. Al polo distale del nucleo (ormai definitivamente nello stadio di riposo)

[1]) Per quanto l'evoluzione ulteriore dello spermatide dimostri — come ho esposto altrove ('11a) — che nell'interno dell'idiozoma non sono contenuti i centrioli, credo ciò nondimeno giustificata l'opinione di Meves ('97b, '99a) che si tratti di una formazione omologabile all'idiozoma dello spermatocita del primo e del secondo ordine. Malgrado che alcuni Autori — fra i quali anche Regaud ('10) — abbiano rilevato la contraddizione esistente fra il significato etimologico del nome in questione e i caratteri del presunto idiozoma dello spermatide; pure mi sembra che si possa conservare il termine ormai generalmente accettato, quando sia assodata con qualche mezzo la omologia di questi organuli nelle tre generazioni di elementi del periodo di maturazione. La dimostrazione da me fornita per lo spermatide (vedi oltre) di organuli periidiozomici identici a quelli presenti attorno all'idiozoma di taluni spermatogoni e delle due generazioni cellulari precedenti alla spermatidica, nonchè la dimostrazione del particolare rapporto che assume il presunto idiozoma dello spermatide col residuo fusoriale — mi sembrano essere due fatti sufficenti a farci stabilire la omologia suddetta.

i condriosomi sono raggruppati, come nello stadio precedente, in una zona di citoplasma foggiata a cono, di dimensione variabile.

L'idiozoma e gli organuli dittosomici conservano quasi gli stessi caratteri che abbiamo sopra descritto; è avvenuto però un modellamento più perfetto dei dittosomi sulla superficie dell'ammasso idiozomico e si è andata manifestando una certa indeterminatezza nei limiti fra dittosoma e dittosoma, che fa talvolta pensare alla esistenza di una continuità lineare di due o più di essi.

(Non escluderei che un metodo di impregnazione, qualora riuscisse a colorare nitidamente i filamenti periidiozomici, non possa forse mettere in evidenza, nel caso dello spermatide, delle anastosomi fra dittosomi e forse anche delle formazioni reticolari, in luogo di organuli indipendenti.)

Dopo lo stadio descritto, comincia il vero e proprio processo di istogenesi dello spermatozoo; a proposito del quale saranno qui più specialmente descritte le sorti del condrioma. Le linee essenziali e i numerosi dettagli del processo di metamorfosi dello spermatide furono da me esposti altrove ('11a); a codeste mie ricerche intendo di riferirmi per quanto concerne le modalità del processo medesimo.

I condriosomi conservano, nello spermatide in trasformazione, una forma e delle proprietà fisiche (consistenza, rifrangenza, colorabilità previa fissazione) identiche a quelle che possedevano nel periodo spermatocitogenetico: sono cioè dei condrioconti rettilinei, lisci, irrisolvibili otticamente in granuli, rigidi, di calibro uniforme, di lunghezza alquando variabile. Con questi stessi caratteri si mantengono i condriosomi fino ai momenti più avanzati della metamorfosi e li rintracceremo anche nello spermatozoo adulto.

Il comportamento dei condriosomi durante tutto il periodo trasformativo è nel *Geotriton* quanto mai caratteristico; non si riallaccia strettamente a nessun altro dei processi descritti su altro materiale, cosicchè merita di essere dettagliatamente esposto.

L'assettamento del condrioma subisce durante un periodo di circa un mese talune modificazioni che portano ad un aspetto dello spermatide quale è quello riprodotto nella fig. 44. In essa si osserva che l'idiozoma è venuto a situarsi in prossimità dei condriosomi e che questi ultimi hanno occupato una sede caratteristica, in rapporto ad una particolare forma dello spermatide. Quest'ultimo è infatti fornito di un lungo pro-

lungamento citoplasmatico[1]), la cui base d'impianto è per lo più situata in prossimità dell'idiozoma. (Il prolungamento di taluni spermatidi è assai più lungo di quello di cui è provvisto l'elemento della fig. 44.) Il decorso dei prolungamenti è rettilineo oppure lievemente incurvato; quelli appartenenti ad una stessa spermatociste, fanno di solito capo colla loro estremità distale alla periferia dell' unità strutturale stessa — oppure, nei casi nei quali permane una fessura a rappresentare la cavità spermatocistica, giungono fino in corrispondenza del lume virtuale della medesima.

I condrioconti sono situati nell' interno della lingua citoplasmatica e vi si addensano, lasciando libero tutto il rimanente citoplasma — eccezion fatta per il cono d'origine della digitazione. I condrioconti sono tutti diretti col loro maggior asse secondo la lunghezza del processo protoplasmatico ed occupano a preferenza — specie nella sua porzione media — lo strato periferico del medesimo. Le sezioni trasversali del prolungamento mostrano i condrioconti regolarmente situati nella zona corticale, mentre che la parte centrale è priva di filamenti condriosomici. Il prolungamento non ha un calibro uniforme in tutto il suo decorso; a partire da un determinato momento (che di poco precede lo stadio rappresentato dalla fig. 44) la porzione terminale della digitazione appare leggermente rigonfiata a mo' di clava; in corrispondenza di codesto rigonfiamento il citoplasma è sprovvisto di condrioconti ed ha una struttura finemente granulosa.

Non mi è stato possibile di convincermi perentoriamente, se ogni spermatide possegga più di un prolungamento o se invece la regola sia rappresentata da un solo prolungamento. L'esame di preparati ottenuti per dissociazione di elementi, da materiale vivente o fissato, non è utile a decidere tale questione, poichè i prolungamenti citoplasmatici si spezzano nelle manovre che tendono ad isolare gli elementi. Io credo che nei casi dei quali un esempio è la fig. 44, l'esistenza di un secondo prolungamento sia illusoria e suppongo che la regola sia rappresentata da un solo prolungamento[2]). Ciò accorda colla supposizione che il processo

---

[1]) Questi prolungamenti sono particolarmente evidenti nei preparati che servono alla dimostrazione dei condriosomi. Questo spiega il perchè nelle mie ricerche anteriori ('11a) non mi sia esplicitamente occupato di queste formazioni — per quanto le fig. 66 e 67 di quel mio lavoro mostrino il distaccarsi dei prolungamenti dal citoplasma degli spermatidi.

[2]) Meves ('97a) ha illustrato negli spermatidi di *Salamandra* dei prolungamenti citoplasmatici che corrispondono forse a quelli da me osservati; la moltiplicità in ogni elemento delle formazioni descritte da Meves mi trattiene però dallo stabilire una sicura

citoplasmatico di cui parliamo, sia in continuità evolutiva col prolungamento foggiato a cono pieno di condriosomi, che abbiamo studiato nei primi stadii dello spermatide e che è indiscutibilmente unico.

Questa supposizione implica che i cambiamenti nel reciproco rapporto di posizione fra idiozoma e organuli condriosomici, siano determinati da uno spostamento dell'idiozoma (accompagnato dall'apparato centriolare) attorno al nucleo, per circa 180°. Codesta traslazione dell'idiozoma sembra apparentemente negata dalla constatazione che l'idiozoma, anche dopo il subìto spostamento, risiede in una zona della cellula che è ricca di protoplasma. Non mi sembra però che questo argomento infirmi recisamente la mia supposizione, dato che essa contempla l'eventualità più verosimile — se si ammette come vera l'identità fra il prolungamento citoplasmatico che abbiamo descritto nella anafase, il cono presente nei più precoci stadii dello spermatide e la lunga digitazione che abbiamo più su analizzato.

In breve volger di tempo, la formazione a clava, che abbiamo sopra descritto in corrispondenza dell'estremità distale del lungo prolungamento dello spermatide, si rigonfia ancora un poco; in uno stadio immediatamente successivo si presenta escavata: quasi si fosse liberata della sostanza granulosa che conteneva. Il significato biologico di questo processo ci è restato del tutto oscuro; credo di poter tuttavia escludere che esso porti ad una eliminazione, morfologicamente apprezzabile, di condriosomi.

Per quanto nella fig. 44 non siano visibili i filamenti periidiozomici attorno all'idiozoma (nel quale già si è formata la vescicola che darà origine al *perforatorium*), in questo stadio ancora sono dimostrabili tuttavia, in certi preparati, dei dittosomi applicati alla superficie della lunula idiozomica, con un aspetto che illustreremo a proposito della fase successiva.

All'inizio del secondo periodo da me ('11a, pag. 78) distinto nella metamorfosi dello spermatide, si determinano a carico degli organuli che qui ci interessano dei notevoli cambiamenti, quali: la scomparsa della clava terminale della lingua citoplasmatica descritta, l'accorciamento della lingua medesima e l'inizio di una corrente di condrioconti diretta verso la porzione perinucleare del citoplasma. Si ha l'impressione che il progressivo ridursi del prolungamento citoplasmatico faccia sì che i con-

omologia fra le medesime e quelle che io ho descritto. Secondo Meves l'ufficio dei prolungamenti citoplasmatici sarebbe quello di assicurare la mutua disposizione parallela degli elementi che si allungano durante il processo di metamorfosi.

driosomi vengano scacciati fuori di esso e sospinti verso il corpo citoplasmatico dello spermatide. La fig. 45 rappresenta appunto uno spermatide all'inizio del secondo periodo suddetto (caratterizzato da un mutamento iniziale nei mutui rapporti di posizione fra idiozoma e corpuscoli centrali). Esaminando codesta figura, si constata che i condrioconti cominciano ad abbandonare l'evaginazione citoplasmatica nella quale già da tempo risiedevano per affluire verso il corpo dello spermatide; durante questa migrazione, si mostrano fin da principio dotati di una proprietà che conserveranno (anzi, accentuata) in stadii ulteriori: la tendenza cioè ad occupare la zona più periferica del citoplasma, sì da mettersi in contatto quasi immediato colla periferia cellulare.

Nella fig. 45 si apprezzano attorno all'idiozoma alcuni filamenti un poco più spessi dei condriosomi, adagiati alla periferia della superficie convessa della lunula idiozomica. Mentre nel periodo attuale questi filamenti (che sono verosimilmente i medesimi di quelli studiati nelle prime fasi di vita dello spermatide — per quanto appaiano ridotti in numero) sono ancora ben visibili; in uno stadio che lo segue assai da vicino non sono più dimostrabili coi comuni metodi, mentre d'altra parte i metodi usati di solito per mettere in evidenza l'apparato reticolare interno non ci resero buoni servigi.

La progressiva diminuzione in numero dei filamenti periidiozomici rivelabili, fino alla loro completa indimostrabilità, mi sembra parli in favore della supposizione di un cambiamento reale della costituzione loro fisica o chimica — piuttosto che di una parziale insufficenza tecnica. Il non poter rintracciare, al posto dei dittosomi che vanno scomparendo o che sono del tutto scomparsi, delle formazioni granulari o d'altro aspetto, che possano far pensare ad una perdita dell'individualità dei suddetti, parla contro l'ipotesi di una vera e propria disintegrazione dei dittosomi. Propendo a supporre che i filamenti in questione rimangano saldati intimamente alla parete della vescicola idiozomica.

La fig. 46 riproduce una fase di poco posteriore alla precedente. Lo spermatide appare provvisto del solito prolungamento, ormai molto ridotto in lunghezza e quasi disertato dai condrioconti, i quali si sono disseminati per il citoplasma. La vescicola idiozomica — apparentemente priva di organuli dittosomici e fissata al nucleo — ha già cominciato a muoversi per compiere il suo spostamento di 180°. La direzione dei condrioconti è prevalentemente parallela alla superficie dello spermatide; palese è la proprietà, a cui abbiamo sopra accennato, di disporsi quasi a ridosso della periferia cellulare.

Allorquando ha inizio l'allungamento del nucleo, anzi, quando esso ha assunto presso a poco la lunghezza che ha nella fig. 47a, si manifesta nei condrioconti la tendenza ad orientarsi col loro maggior asse secondo la lunghezza della futura testa dello spermatozoo. La disposizione periferica in intimo contatto colla periferia cellulare è ormai comune a quasi tutti gli organuli. Un altro fatto che si rileva, si è che la presenza dei condriosomi è limitata alla porzione caudale dello spermatide, mentre quasi privo sembra rimanerne il segmento anteriore più affilato. Le figg. 47b e 47c, tolte da sezioni trasversali di elementi al medesimo stadio di evoluzione della fig. 47a, confermano la presenza e la caratteristica disposizione periferica dei condrioconti nella porzione posteriore dello spermatide e l'indimostrabilità dei medesimi nel tratto più anteriore.

Nella fig. 47a si nota poi l'esistenza di un tozzo prolungamento situato nella zona di citoplasma prossima ai centrioli, il quale contiene numerosi condrioconti. Si tratta di una formazione costante, della quale non sapremmo con sicurezza asserire la derivazione dal primitivo caratteristico prolungamento dello spermatide.

Col progredire della metamorfosi dello spermatide, di pari passo cioè coll'allungamento del nucleo in una alla trasformazione (ingrossamento e cilindrificazione) del corpuscolo centrale prossimale, ha luogo un sempre più rigoroso allineamento, secondo l'asse dello spermatozoo evolventesi, dei condrioconti; i quali si mantengono strettamente addossati alla periferia cellulare. La fig. 48a, che riproduce solo il terzo posteriore di uno spermatide in evoluzione e nella quale (come nella fig. 47a) sono disegnati anche alcuni condrioconti sovrapposti al nucleo, illustra i particolari ora esposti. La fig. 48b è tolta da un elemento nel medesimo grado di sviluppo della fig. 48a, sezionato trasversalmente all'altezza della porzione della testa che è provvista di condrioconti; questi ultimi mostrano — ancora più netta che nello stadio precedente — la loro situazione corticale.

Mentre prosegue l'evoluzione dello spermatide, si osserva da questo momento in avanti la lenta e progressiva diminuzione nella rifrangenza e nella colorabilità dei condrioconti, che ne rende impossibile la visibilità nello spermatozoo adulto — qualora ci si contenti di un esame condotto coi metodi istologici comuni.

Le figg. 49a—c si riferiscono ad uno stadio già molto evoluto, nel quale il corpuscolo centrale è sulla via di trasformarsi nel collo dello spermatozoo. Le figg. 49b e 49c sono tolte da sezioni trasversali di spermatidi nell'identico stadio della fig. 49a: nella prima di esse, la sezione

cade sulla porzione della testa sprovvista di condrioconti; nella seconda, sul corpuscolo centrale prossimale allungato.

Per quanto già nello stadio ora descritto si cominci a notare un' incipiente diminuzione nella colorabilità dei condriosomi, pure anche in stadii assai più inoltrati essi sono dimostrabili con sufficente chiarezza. Specialmente nelle sezioni trasversali di spermatidi anche molto evoluti, sono ancora riconoscibili i condrioconti: i quali, perchè poco colorati, sono assai più evidenti se visti in sezione ottica che non se si prospettano in superficie.

Le figg. 50 a—e, tolte da sezioni trasversali condotte a diverso livello su spermatozoi ad un identico stadio di evoluzione, mostrano l'allineamento e la disposizione caratteristica dei condrioconti alla periferia dell'involucro citoplasmatico, in una fase evolutiva molto avanzata — caratterizzata dall' allungamento del pessario centriolare [Terni ('11a), pag. 84 e seg.].

Anche ulteriormente, quando il pessario si è già notevolmente allungato e la membrana ondulata è già ben riconoscibile (cioè sul finire dell'ultimo periodo della metamorfosi dello spermatide), è possibile distinguere ancora, su sezioni trasversali di spermatozoi, nel sottile strato di citoplasma che involge la porzione posteriore della testa, il collo e un piccolo tratto della parte prossimale della coda, la sezione ottica dei condrioconti.

* * *

Cogli esami microscopici comuni, sia a fresco che in preparati opportunamente fissati e colorati, sia nell'esame microscopico ordinario che nell'esame col condensatore parabolico — non è possibile di rintracciare negli spermatozoi adulti i condriosomi, nella sede che il suesposto determinismo spermatistogenetico ci indica che sono andati ad occupare.

Dopo ripetuti tentativi ho trovato un mezzo tecnico, col quale sono riuscito nell'intento che mi ero prefisso e nel quale avevo insistito — data l'importanza che ad esso era legata. Come ho esposto diffusamente altrove ('13), sono riuscito, con una soluzione acquosa di cloruro di sodio (*optimum* della concentrazione: 7%) lasciata agire sullo sperma di *Geotriton* per varii giorni, a rigonfiare opportunamente la cromatina della porzione posteriore della testa e a mettere in tal modo anche a fresco in evidenza i condriosomi.

Abbiamo visto nel corso della istogenesi dello spermatozoo il progressivo ravvicinarsi fra loro dei condrioconti serrati fra membrana cellulare e cromatina; è da arguirsi che in stadii più avanzati di quello della fig. 50 essi siano così ravvicinati l'uno a lato dell'altro, per il ridursi dell'involucro

citoplasmatico e per l'affinarsi del calibro del cilindro cromatinico, da formare (là dove sono presenti) come una membrana continua che raddoppia verso l'interno la membranella citoplasmatica che involge lo spermatozoo.

Col rigonfiamento della cromatina provocato dall'azione su di essa della soluzione salina, si ottiene evidentemente un distendimento del sottilissimo involucro che involge nella testa la cromatina, al quale sono saldati verso l'interno i condrioconti — ciò che induce un tale discostamento di questi ultimi, gli uni dagli altri, da permetterne la visibilità. All'esame a fresco gli organuli, in tal modo messi in evidenza, sono in tutto simili a quelli che ho potuto osservare pure sul vivente nel periodo di maturazione e negli spermatidi; cosicchè non dubito della natura condriosomica di essi.

Sono riuscito a fissare e a colorare gli spermatozoi adulti, previamente trattati col metodo su esposto, in modo da dimostrare in essi nitidamente i condrioconti. La fig. 51 rappresenta appunto uno spermatozoo sottoposto a questo trattamento: illustra — con maggiore evidenza — i particolari desunti coll'esame a fresco.

La indimostrabilità con questo artificio tecnico dei condrioconti nel collo e nella parte iniziale della coda, dipende evidentemente dal fatto che — per ragioni che ci sfuggono — il mezzo da noi usato non è stato capace di rigonfiare le sostanze che costituiscono il collo e il filamento assile della coda.

V. Riepilogo e considerazioni.

1. Idiozoma e formazioni periidiozomiche.

Nel citoplasma di tutti gli elementi in istato di riposo nucleare del ciclo spermatogenetico del *Geotriton*, esiste un organulo assai ben definito, sensibilmente sferico, identico alle formazioni con svariati nomi descritte da moltissimi Autori in un gran numero di specie animali: questo organo è l'idiozoma. Esso deve esser tenuto distinto dalle altre formazioni differenziate nel citoplasma, quali i condrioosmi, gli organuli periidiozomici e il residuo fusoriale ed ha per caratteristica di contenere nel suo interno[1]) (eccetto che nello spermatide) i corpuscoli centrali — dimostrabili in un determinato periodo della vita cellulare — e di contrarre rapporti di contiguità coi particolari organuli che abbiamo convenuto di chiamare «dittosomici» o «periidiozomici».

---

[1]) Relativamente all'idiozoma dello spermatide, vedi le considerazioni esposte nella Nota a pag. 60.

Come è noto, molti Autori (Meves, Rawitz, Erlanger, Eisen, Gurwitsch, ecc.) hanno dimostrato i centrioli nell'idiozoma delle cellule in riposo, ancora lontane dalla mitosi; a me è stato possibile di identificarli con assoluta sicurezza negli spermatociti alquanto prima della mitosi e, precisamente, all'inizio della concentrazione della basicromatina nelle diadi cromosomiche. Ho assistito, inoltre, alla genesi endoidiozomica di un fuso centrale nel senso di Hermann, teso fra i due centrioli divenuti corpuscoli polari; suppongo che codesto processo si compia colle medesime modalità in quel materiale nel quale alla mitosi preesiste un idiozoma organizzato.

Ritengo non improbabile infine che l'idiozoma si origini per trasformazione della porzione polare dei filamenti centrali o mantellari del fuso.

* * *

Gli organuli periidiozomici sono nel *Geotriton* dimostrabili nel vivente in tutti i momenti nei quali con tecnica opportuna è possibile di metterli in evidenza nei preparati; con questa constatazione resta dimostrata sia la loro esistenza reale, sia la fondatezza delle osservazioni desunte da materiale fissato, le quali corrispondono, in quanto a morfologia minuta dei dittosomi, a quelle condotte sul vivente.

Le formazioni periidiozomiche non sembrano anastomizzarsi, in guisa da costituirsi in una formazione reticolare. I filamenti periidiozomici posseggono (specialmente negli spermatociti del 1° e del 2° ordine) una caratteristica forma arcuata, ad estremità assottigliate e sono applicati alla superficie dell'idiozoma, contraendo con esso un rapporto topografico più o meno intimo. Il numero dei dittosomi si manifesta sensibilmente costante in ogni generazione del periodo spermatocitogenetico ed è certamente minore (della metà?) nelle cellule figlie in confronto alla cellula madre.

Mentre i dittosomi serbano dei caratteri presso a poco costanti nei diversi momenti del riposo nucleare, si dissolvono in granuli all'inizio della profase (in ambo le divisioni di maturazione) allorchè l'idiozoma aumenta di volume per il delinearsi nel suo interno del fuso centrale. Questi granuli persistono probabilmente nella cinesi — rimanendo situati ai poli (e all'equatore?) della figura acromatica. Nella telofase inoltrata delle due divisioni di maturazione si ridilineano i filamenti dittosomici all'intorno dell'idiozoma.

Nello spermatide l'apparato periidiozomico è rintracciabile per un certo tempo, ma finisce poi con lo scomparire: non è improbabile che

gli elementi ond'è costituito si saldino alla parete della vescicola idiozomica, destinata a dar luogo al *perforatorium.*

Agli organuli periidiozomici da noi descritti sono da ricondursi molte delle formazioni, con svariati nomi descritte da molti Autori nella spermatogenesi di un gran numero di animali, e che abbiamo altrove enumerato e discusso.

Anche nella oogenesi troviano un organulo che — d'accordo con Meves — stimiamo omologo all'idiozoma della spermatogenesi: questo è il nucleo vitellino (Balbiani), presente negli oogoni e in un limitato periodo dello stadio di accrescimento ovocitario di molti animali. L'identificazione di questa parte della cellula coll'idiozoma, oltre che dalla dimostrazione di centrioli nel suo interno ormai fornita (Gurwitsch, ecc.), è giustificata, secondo il mio modo di vedere, anche dalla esistenza in contiguità del nucleo vitellino stesso di organuli (van der Stricht, Levi, ecc.) riconducibili a quelli dittosomici. Quest'ultima considerazione vale naturalmente anche per la identificazione dell'involucro che circonda i centrioli nelle cellule preseminali.

L'occorrenza di organuli dittosomici, la quale, insieme alla frequente presenza concomitante dei centrioli, depone evidentemente per l'esistenza di un idiozoma contenuto nello spazio che i medesimi organuli delimitano, è stata dimostrata, oltre che nei gonociti (Levi, v. Berenberg-Gossler), anche in numerose cellule somatiche (Ballowitz, Deineka, Barinetti ecc.).

Se si vogliono sinteticamente ordinare le principali idee espresse dai diversi Autori sulla particolar morfologia e sulla sorte dell'apparato dittosomico, occorre raggrupparle partitamente, riferendosi a tre diversi momenti della vita cellulare: 1° allo stato di riposo nucleare; 2° alla divisione mitotica; 3° al caso particolare della metamorfosi della spermatide.

Nello stato di riposo della cellula: È stato supposto da alcuni che si tratti di filamenti indipendenti (bastoncini del *Nebenkern* di Platner, di Bolles-Lee, ecc.; anse archiplasmatiche di Hermann, di Meves, ecc.; pseudocromosomi di M. Heidenhain, di van der Stricht, ecc.; dittosomi di Terni, di Levi, ecc.). Altri si sono pronunciati per una formazione di aspetto reticolare, a filamenti cioè anastomizzati fra loro: così Heidenhain (per le *Centralkapseln*), Ballowitz, Perroncito, Deineka, Barinetti, Berenberg-Gossler, ecc. Mentre quest' ultima categoria di Autori (eccettuato Pilat), ammette una posizione periferica rispetto all' idiozoma dell'apparato dittosomico,

alcuni dei primi Autori citati non definiscono nettamente un tale rapporto, ma parlano invece di organuli che fanno parte integrante dell'idiozoma (paranucleo di Platner, di Bolles Lee, ecc.) o che derivano dallo spezzettarsi di esso.

Nella divisione mitotica: Platner ha osservato il raggrupparsi dei suoi bastoncini attorno a ciascuno dei corpuscoli polari, dei quali ulteriormente formano i raggi principali, distinti dai raggi citoplasmatici. Hermann ha presunto la bipartizione, fra i due spermatidi, di formazioni certamente dittosomiche, desumendola da un ordinamento profasico in due centri delle sue anse archiplasmatiche. Anche Murray ha evidentemente descritto, colla sua frammentazione del paranucleo e con la ripartizione ai due poli della figura cinetica dei detriti così originati, un comportamento tattico di formazioni periidiozomiche.

Perroncito, colla sua nota dittocinesi, ha descritto lo spezzarsi nella mitosi dell'apparato di Golgi in membri arcuati (dittosomi) i quali si ordinano in due gruppi, ognuno dei quali passa a ciascuna cellula figlia per ricostituirvi il reticolo endocellulare[1]).

Durante la spermatistogenesi: L'apparato periidiozomico sarebbe espulso dallo spermatozoo parzialmente (Popoff) o interamente (Sjövall). Secondo altri (Perroncito, Hirschler, Weigl) esso coopererebbe alla costituzione definitiva dello spermatozoo.

Relativamente alla genesi e alla natura probabile dei filamenti dittosomici, ecco le varie ipotesi formulate: Natura cromidiale, cioè origine nucleare dei suddetti (prima ipotesi di Platner, Popoff, Jörgensen, ecc.); natura condriosomica (Heidenhain, Fauré-Fremiet); origine idiozomica (Platner, Murray) e infine l'interpretazione di Perroncito, che fa provenire il suo apparato reticolare da un identico apparato preesistente nella cellula madre.

Nessun fatto ho osservato io in favore della provenienza dal nucleo dell'apparato dittosomico. Il primo apparire di quest'ultimo non coincide affatto col periodo di accrescimento dello spermatocita (come ammettono alcuni dei sostenitori di questa ipotesi), bensì esistono formazioni peri-

---

[1]) Duesberg ('12) discute il valore delle ricerche di Perroncito, asserendo che l'apparato reticolare interno della *Paludina* corrisponde all'idiozoma o per lo meno allo strato superficiale di esso e che i dittosomi di P. sono frammenti dell'idiozoma. Poichè io ammetto la identità dell'apparato medesimo cogli organuli periidiozomici (vedi pagg. 7—16) e con ciò l'indipendenza di questi ultimi dall'idiozoma, è ovvio insistere sul mio disaccordo con Duesberg a questo proposito.

idiozomiche fin negli spermatogoni. Relativamente alla supposta natura mitocondriale delle suddette, io ho dimostrato essere codeste formazioni in ogni momento della vita cellulare morfologicamente indipendenti dalle condriosomiche, per cui non esito ad asscrire l'inesistenza di rapporti genetici fra le due sorta di organuli.

Sull' indipendenza morfologica dei filamenti dittosomici dall' idiozoma, che sussiste malgrado lo stretto rapporto di contiguità che essi con quest'ultimo contraggono, ho già insistito sopra.

Infine, nel materiale da me studiato, non sembra verificarsi un processo dittocinetico quale è quello illustrato brillantemente da Perroncito, del quale processo non è stato ancora fornito alcun nuovo esempio altrettanto dimostrativo.

Sono pertanto incline a ritenere che i filamenti periidiozomici (dittosomi) rappresentino anche nel *Geotriton* (e verosimilmente nel larghissimo materiale nel quale è possibile riconoscerli attaverso alle descrizioni degli Autori) delle formazioni morfologicamente ben definite le quali per la costanza della loro presenza nelle varie generazioni cellulari (e per la parte che forse prendono alla formazione dello spermatozoo), debbono ritenersi biologicamente importanti. Specialmente probativo a tal riguardo mi sembra sia la costanza di dimensioni dell'apparato periidiozomico negli elementi di una stessa generazione (spermatociti del primo, del secondo ordine e spermatidi) e la manifesta diminuzione notevole nel numero degli organuli componenti l'apparato medesimo, da una generazione di elementi (spermatociti del primo e del secondo ordine) alla successiva.

Quest'ultimo fatto può interpretarsi: o colla supposizione che le dimensioni dell'apparato dittosomico debbano essere proporzionali alla grandezza della cellula nella quale è contenuto, oppure (e questa mi sembra l'ipotesi più verosimile) ammettendo che, malgrado l'apparente scomparsa delle individualità dittosomiche durante la mitosi, si effettui ciò nonostante un'equa ripartizione fra le cellule figlie del materiale dittosomico destinato ad organizzarsi (senza subire un sensibile accrescimento) in reintegrate individualità, nel periodo telocinetico.

2. Condriosomi.

Un materiale favorevole mi ha permesso di condurre una minuta analisi morfologica su formazioni, delle quali mi sembra di avere esaurientemente dimostrato in modo implicito la natura condriosomica.

Nonostante infatti l'aspetto di filamenti rettilinei, diverso da quello di altri condrioconti, che per un lungo periodo posseggono — pure la constatazione del caratteristico comportamento loro durante la mitosi e della loro partecipazione diretta alla costituzione dello spermatozoo, non lascia adito a dubbii sulla natura di essi: intesa nel senso della loro omologia con molte delle note formazioni descritte da Benda e dopo di lui da uno stuolo di Autori; in materiale animale gonocitario e somatico e nei vegetali [vedi anche Pensa ('12), Guillermond ('12), ecc.)].

Anche la visibilità dei condriosomi nel vivente, della quale mi sono potuto assicurare, oltre a rendermi persuaso della esistenza loro reale, ha convalidato la loro identificazione, poichè — come è noto — molte ricerche, fra le quali quelle di v. Brunn ('84), di Benda ('03), di Koltzoff ('06), di Meves ('07b), di Duesberg ('10), di Fauré-Fremiet ('10), di Montgomery ('11), ecc., si accordano nel ritenere dotati i condriosomi di un indice di rifrazione maggiore del citoplasma ambiente.

Ho orientato le mie indagini tecniche in modo da cercar di raggiungere la conservazione della struttura apprezzabile a fresco; ho così avuto agio di espletare le mie ricerche su materiale sottoposto a tali modalità tecniche, da permettere delle osservazioni che quasi esattamente coincidevano con quelle possibili su materiale vivente.

La presenza dei condriosomi è costante in ogni generazione del ciclo spermatogenetico. Su questo assioma val la pena di insistere perchè — sebbene già reiteramente enunciato — solo raramente è stato desunto da uno studio completo, su di uno stesso oggetto, della spermatofilogenesi, della spermatocitogenesi e della spermatistogenesi, quale io mi sono proposto di compiere col presente lavoro. Come risulta anche dalla bibliografia esposta, nella maggior parte delle ricerche è stata il più spesso indagata una sola tappa del processo gonogenetico, mentre le rimanenti o erano solo sfiorate o addirittura taciute.

I condriosomi presenti in ogni generazione di cellule della spermatogenesi del *Geotriton* posseggono la forma di filamenti: flessuosi ed intrecciati negli spermatogoni, rettilinei e rigidi nel periodo spermatocitogenetico e spermatistogenetico. Sono dei veri condrioconti: hanno cioè una superficie liscia e non sono mai otticamente risolvibili in granuli allineati. La presenza di condrioconti nella gonogenesi dei Vertebrati è un fatto del quale l'unico esempio era fino ad ora costituito dalla breve osservazione di Duesberg ('10) sugli spermatogoni di *Salamandra*. Queste mie ricerche tolgono perciò la distanza che esisteva — specialmente

per le divisioni di maturazione — fra la morfologia dei condriosomi spermatici dei Vertebrati (ritenuti granulari) e degli Invertebrati (spessissimo filamentosi). Aggiungo che sono disposto a supporre che in un materiale molto più vasto di quello che fin'ora le varie ricerche (non sempre esaurienti e persuasive) non lascino pensare, esistano — anche in Vertebrati — condriosomi filamentosi piuttosto che condriomiti e mitocondri; ciò è però da escludersi verosimilmente pei Mammiferi.

* * *

La dimostrazione da me data di condriosomi negli spermatogoni, oltre che contribuire ad avvalorare le basi delle idee di Benda, di Meves, di Duesberg, di Levi, ecc. sull'importanza e il significato possibili del condrioma, mi sembra che fornisca gli elementi utili ad una breve discussione delle vedute fondamentalmente espresse da Goldschmidt ('04, '09) e di quelle emesse da Rubaschkin ('10, '12).

Se si ammette come assodata l'identità di molte delle formazioni cromidiali della gonogenesi (principalmente studiate nei lavori altrove citati della Scuola di Monaco) coi condriosomi, è chiaro che la constatazione da me fatta (d'accordo con numerosi Autori) di un cospicuo condrioma negli spermatogoni, parla contro l'idea della provenienza nucleare, durante il periodo auxocitario, di quei cromidii che sono riconducibili alle formazioni condriosomiche. — È vero però che, secondo taluni dei sostenitori della idee di Goldschmidt, un apparato cromidiale esisterebbe fin negli spermatogoni (Wassilieff, Buchner, ecc.), ma è pur vero che, secondo tali ricercatori, in ogni caso il maggior incremento dell'apparato medesimo (e per conseguenza anche del condrioma) si otterrebbe mediante attività del nucleo, specialmente durante il periodo di accrescimento, allo scopo di ristabilire l'equilibrio plasmatico-nucleare. Del resto l'accertamento dell' esistenza di condriosomi negli spermatogoni acquista maggior valore come obbiezione alla ipotesi della loro origine nucleare durante il periodo auxocitario, qualora sia integrato dalla constatazione diretta, da me compiuta, della assoluta indipendenza genetica, durante tutto il suddetto periodo, dei cromidii (condriosomi, dittosomi) dal nucleo.

Relativamente ai concetti svolti da Rubaschkin, le mie osservazioni sugli spermatogoni, che mi hanno dimostrato l'esistenza di condrioconti fin negli archispermatociti, mostrano la inestensibilità di codesti concetti per lo meno agli Anfibii. — Come è noto, secondo le ricerche di Rubaschkin ('10, '12) le cellule della via germinale dei Mammiferi (per es. della Cavia) sarebbero contrassegnate da mitocondri granulari, identici a quelli

presenti nei primi blastomeri — mentre nelle cellule embrionali somatiche assai precocemente i mitocondri confluirebbero in condrioconti.

Ora, se effettivamente dalle ricerche di Rubaschkin su embrioni di Mammiferi[1]), di Tschaschin ('10) sugli Uccelli, risulterebbe la struttura granulare dei condriosomi delle cellule germinali delle varie generazioni, non altrettanto può dirsi per le altre classi di animali. Levi ('12a) ha infatti dimostrato la esistenza di condrioconti nei gonociti di *Bufo v.*; le ricerche di D'Holländer (oogenesi degli Uccelli), di Wilke, di Duesberg (spermatogenesi degli Insetti), di Dingler (spermatogenesi di un Verme), ecc., hanno dimostrato la presenza di condriosomi decisamente filamentosi nel periodo spermato- e oogoniale. La supposizione avanzata da Duesberg ('12, pag. 683), evidentemente per salvare la portata generale delle idee di Rubaschkin, che negli spermatogoni la regola sia rappresentata da condriosomi granulari e che, ad es., i condrioconti da lui stesso veduti negli spermatogoni (di quale generazione?) di *Triton* risultino da fusione di granuli mitocondriali forse presenti in cellule progenitrici — non è basata su alcun dato obbiettivo di fatto.

Adunque riteniamo che l'ipotesi di Rubaschkin non abbia valore per quanto concerne le cellule preseminali (e preoogoniali) degli Anfibii.

Non ho potuto formarmi idee chiare sul comportamento, nel mio caso, dei condriosomi degli spermatogoni durante la mitosi; di essa non sapremmo dire altro se non che opera un'equa distribuzione, alle cellule figlie delle varie generazioni, dei condriosomi preesistenti. Negli spermatogoni delle prime generazioni è da arguirsi l'accrescimento del condrioma durante il tempo che intercede fra una cinesi e la successiva.

I condrioconti degli spermatogoni sono affatto indipendenti morfologicamente dalle formazioni periidiozomiche — più facilmente dimostrabili nelle ultime generazioni degli spermatogoni.

* * *

All'inizio del periodo di accrescimento i condrioconti sono assai brevi; parallelamente al progressivo incremento in grandezza dell'auxocita, codesti brevi filamenti si allungano a poco a poco per un vero e proprio accrescimento autonomo (terminale o interstiziale non sapremmo

[1]) Da ricerche ancora inedite privatamente comunicatemi dal Prof. Levi, risulta che gli oogoni e gli ociti di Mammiferi all'inizio dell'accrescimento (*Lepus c.*, *Bos t.*) sono caratterizzati da condriosomi filamentosi e non da granuli.

dire) e non per fusione di mitocondri o dei brevi condrioconti fra loro. Questa mia opinione è principalmente basata su due fatti: assenza di granuli o di condrioconti foggiati a linea tratteggiata; mancanza di diminuzione apprezzabile nel numero delle entità condriosomiche attraverso il lungo periodo auxocitario. Questa modalità di accrescimento dei condrioconti — contraria a quella comunemente ammessa per il periodo di accrescimento — è a nostro avviso un carattere che appoggia la ipotesi della conservazione della individualità dei condriosomi e della relativa fissità nel loro numero.

I condriosomi — che nel corso del periodo di accrescimento sono divenuti dei filamenti rettilinei, fini, rigidi, assai rifrangenti, dotati di notevole consistenza [Terni ('12)], indipendenti l'uno dall'altro così come dalle formazioni periidiozomiche — subiscono prima, durante e dopo le due divisioni di maturazione, dei notevoli spostamenti, conservando la loro forma originaria inalterata. Essi possono trovarsi e addensarsi in una determinata limitata zona del citoplasma (alone periidiozomico dell'auxocita, coppa perinucleare dello spermatocita del primo e del secondo ordine, ecc.), disertando anche completamente altri territorii del citoplasma considerevolmente estesi.

Vale rigorosamente la regola della impenetrabilità del fuso centrale da parte dei condriosomi; allo stesso modo questi ultimi non invadono mai l'idiozoma — in seno al quale abbiamo visto d'altronde originarsi il fuso.

La partecipazione attiva dei condrioconti alle divisione cellulare può essere concretata in questi termini: nelle due divisioni di maturazione si ha, consecutivamente a complesse manovre profasiche di orientamento, una tattica cinetica dei condrioconti, la quale trova il suo culmine immediatamente dopo le manovre mitotiche della cromatina cromosomica. Le due condriocinesi di maturazione hanno ciascuna per effetto una divisione trasversale dei condrioconti nel piano equatoriale, che si effettua sincronicamente al determinarsi del solco equatoriale divisorio dei citoplasmi.

[Specialmente nella seconda divisione è obbiettivamente dimostrabile la divisione trasversale di tutti i condrioconti; mentre nella prima divisione alcune cause determinano la impossibilità di tale constatazione per tutti i condrioconti; sì che non è escluso che alcuni di questi possano eventualmente sfuggire alla divisione condriocinetica.]

Durante la mitosi adunque i condrioconti sono contenuti e si spostano nel citoplasma in modo simile ai cromosomi e — come questi non sono parte integrante del citoplasma pur essendovi contenuti — allo stesso modo i condriosomi si mantengono morfologicamente indipendenti dal citoplasma ambiente, pur essendovi immersi.

Per quanto non intenda di addentrarmi nella questione della struttura del protoplasma (Flemming, Altmann, Arnold, Heidenhain) — che è stata messa sotto nuova luce, ma non risolta, dalle ricerche sui condriosomi — è indispensabile tuttavia che dedichi qualche parola alla idea che mi sono fatto sui rapporti fra condriosomi e citoplasma.

Per quanto si debba riconoscere che Flemming — come afferma Meves ('07c, '08) — abbia visto colla sua «massa filare» anche dei condrioconti, pure mi sembra che non si possa mettere il condrioma a base di una teoria di struttura del protoplasma.

Io mi sono convinto che i condrioconti rappresentino degli organuli ben individualizzati e morfologicamente indipendenti dal mezzo ambiente; il quale appariva nel mio caso a struttura omogenea, ma che può in altri casi — come è noto — presentarsi alveolare, ecc. Come abbiamo visto, i condrioconti si spostano nella mitosi con molta vivacità, attraverso a quello che si può chiamare citoplasma propriamente detto o, con Meves, «sostanza fondamentale», ecc.; è più che probabile che l'antico paramitoma di Flemming corrisponda solo ad una parte piccolissima di esso.

Le radiazioni protoplasmatiche periidiozomiche della profase e polari della metafase, appartengono come formazioni temporanee a codesto citoplasma propriamente detto — nel quale si manifesta, in determinati momenti, la tendenza a strutturalmente disporsi secondo un orientamento di fini trabecole che, invisibili a fresco, divengono patenti con particolari trattamenti, che non coincidono affatto con quelli atti a mettere in evidenza i condriosomi. Per quanto non mi sia stato possibile di dimostrare contemporaneamente le due sorta di formazioni, in modo da obbiettivamente provarne la coesistenza le une accanto alle altre, ritengo pur tuttavia che esse debbano esser tenute affatto distinte le une dalle altre e che, più precisamente, (in ciò d'accordo nelle linee essenziali con Meves) i condrioconti giacciano negli spazii interposti alle radiazioni citoplasmatiche. Ricordiamo in fine che esiste coincidenza nel tempo fra il primo presentarsi delle radiazioni periidiozomiche e dell'orientamento raggiato periidiozomico dei condrioconti, da una parte; dall'altra, fra primo avvento delle

radiazioni polari e della tendenza all'orientamento metafasico pericentriolare dei condrioconti stessi.

Gli spostamenti multipli e complessi che i condriosomi subiscono, specialmente nel periodo spermatocitogenetico, in seno al citoplasma ambiente, mi inducono adunque ad escludere nel modo più esplicito che i condrioconti rappresentino una struttura del citoplasma; non sembri superflua questa mia insistenza nel ribattere codesta veduta, quando si consideri che anche un autorevole ricercatore quale è Retzius se ne mostra implicitamente fautore allorchè ammette, discutendo le ricerche di Meves ('08), che i condriosomi non siano altra cosa se non i filamenti provvisti di granuli costituenti l'enigmatico mitoma di Flemming, messi in evidenza più o meno completamente nei loro dettagli ('12).

Per quel che concerne la possibile interpretazione teorica delle condriocinesi di maturazione, l'ipotesi di uno special significato riduttivo della tattica condriosomica (Giglio-Tos e Granata, Duesberg ecc.) mi sembra — data la somma delle nostre conoscenze al riguardo — ancora prematura; dal momento che non sappiamo positivamente se e in quanto il comportamento dei condriosomi durante le divisioni di maturazione differisca da quello dei condriosomi nelle comuni cellule somatiche. Infatti, esiste talora in queste ultime un comportamento del condrioma tale, che sembra aver per effetto la ripartizione sensibilmente eguale dei condriosomi[1]). Però si deve in ogni caso riconoscere che le osservazioni su di un materiale assai disparato provano il fatto che, nelle divisioni riduttive spermatogenetiche (Benda, Meves, Giglio-Tos, Granata, Duesberg, Gérard, Fauré-Fremiet, Montgomery, ecc.), si effettua con particolare evidenza una partecipazione spesso attiva dei condriosomi; nel caso da me studiato il processo ha assunto una sorprendente chiarezza e regolarità.

Sulla duplice divisione trasversale dei condrioconti che ho osservato non mi sembra adunque che per ora si possa costruire alcuna ipotesi nel senso di una possibile riduzione quantitativa o qualitativa dei condriosomi — anche perchè abbiamo notato che, subito dopo le divisioni suddette, si ha con tutta verosimiglianza un accrescimento in lunghezza dei condrioconti dimezzati (specialmente desumibile dallo studio della prima divisione di maturazione).

---

[1]) Vedi, ad esempio, le ricerche a tal proposito di Meves ('08), di Duesberg ('10), di Comes ('09, '10), di Levi ('11), ecc. In un lavoro di Levi in corso di pubblicazione si insiste sulla grande somiglianza esistente fra le mitosi di alcune cellule somatiche dell' ovaio di Mammiferi e quelle sessuali, quali sono state da me e da altri illustrate.

Piuttosto voglio insistere sul fatto evidente che le due condriocinesi dimostrano la continuità morfologica dei condrioconti da un elemento cellulare all'altro, la quale è strettamente legata alla loro individualità e alla loro persistenza, sotto la loro abituale morfologia, durante l'intera fase cinetica del periodo spermacitogenetico. Il determinismo del processo condriocinetico parla in un senso generale in favore di un avvaloramento dell'importanza del condrioma, in quanto che le idee oggi dominanti in morfologia assegnano giustamente un grado elevato a quelle parti costituenti della cellula, che si comportano attivamente durante la divisione cellulare.

* * *

I condriosomi da noi seguiti nel periodo di maturazione, persistono con gli identici caratteri esteriori durante il periodo spermatistogenetico, mostrando i segni di una squisita attività e partecipando in ultimo in modo affatto caratteristico alla costituzione dello spermatozoo adulto. Non ripeterò le modalità di questo processo nè insisterò sugli spostamenti, di significato quanto mai oscuro, che i condrioconti subiscono all'inizio del periodo di trasformazione: spostamenti che servono a convalidare il nostro modo di vedere su esposto sui rapporti che corrono fra citoplasma e condriosomi. Intendo di soffermarmi solamente sul fatto che la sede, ove prevalentemente si localizzano i condriosomi dello spermatide, è la testa dello spermatozoo. Il grado della partecipazione dei condrioconti alla definitiva costituzione dello spermatozoo è nel caso del *Geotriton* il seguente: tutti i condrioconti presenti nello spermatide vengono utilizzati nella formazione dello spermatozoo, rimanendo compresi fra l'involucro di citoplasma che va via via assottigliandosi sempre più nell'allungamento della testa dello spermatozoo, e il cilindro di cromatina; in modo da formare in ultimo come un involucro di filamenti stipati che raddoppia verso l'interno, in corrispondenza della parte posteriore della testa, la membranella citoplasmatica involgente la cromatina. È possibile, con particolari mezzi tecnici, di dimostrare i condrioconti nello spermatozoo adulto.

[È da supporre che anche in corrispondenza del collo e di una brevissima porzione iniziale del filamento assile della coda esistano dei condrioconti, per quanto — al contrario dei condriosomi situati nella testa — non sia possibile di dimostrarveli con opportuni mezzi nello spermatozoo adulto.]

Come è noto, tutti gli Autori (salvo rare eccezioni) sono concordi nel ritenere, che, nella spermatistogenesi di tutti gli animali studiati, i condrio-

somi intervengano nella costituzione dello spermatozoo maturo, contribuendo a formare di esso una porzione della quale si deve ritenere certa la penetrazione nell'uovo nell'atto della fecondazione. [Ormai numerose ricerche hanno obbiettivamente dimostrato l'ingresso nell'uovo dei condriosomi maschili: quelle degli Zoja ('91), di Meves ('10c, '11a) e di Held ('12) sull'*Ascaris*; quelle di Retzius ('10) e di Meves ('11b, '12a, b) sul *Parechinus*; quelle di Van der Stricht ('02, '09), di Lams e Doorme ('08), Lams ('10), ecc. su taluni Mammiferi.]

Le modalità invero dell'intervento dei condriosomi nella istogenesi dello spermatozoo sono delle più svariate, come dalla esposizione bibliografica si può desumere; non sempre poi nello spermatozoo adulto conservano inalterata la loro individualità morfologica. Nella spermatogenesi del *Geotriton* la partecipazione dei condrioconti alla formazione dello spermatozoo adulto si compie con una decisa persistenza delle singole individualità condriosomiche.

Dunque, filamentosità dei condriosomi, loro sede cefalica e conservazione della loro individualità morfologica nello spermatozoo adulto, rappresentano la triplice caratteristica di questo e, presumibilmente, di altri Urodeli; in contrasto, cioè, con quanto riteneva Benda a proposito degli spermatozoi di Urodeli (vedi pag. 30). Del resto, altre ricerche di Benda ('03) parlano nel senso della presenza di formazioni mitocondriali nella testa degli spermatozoi di alcuni Vertebrati, come nel *Bombinator*, nella *Lacerta*, nella *Columba*; mai era stata però data esplicitamente la prova sicura e documentata della partecipazione di condriosomi — e per di più filamentosi — alla istogenesi degli spermatozoi filiformi. Come ho esposto altrove ('13), ritengo che le fibrille messe da Ballowitz ('06) in evidenza colla macerazione negli spermatozoi di *Geotriton*, corrispondano ai nostri condrioconti. Le osservazioni di Koltzoff ('08), condotte con tutt'altro intento che non fosse la dimostrazione dei condriosomi, verranno prese in esame nella discussione della sua ipotesi. L'esistenza dei condrioconti nella testa dello spermatozoo ci rende adunque sicuri della penetrazione nell'uovo del condrioma paterno.

Se la sede che i condriosomi occupano nello spermatozoo ha in sè un grande interesse teorico in quanto ci informa sul possibile destino biologico di codesti organuli, la particolar morfologia di essi merita speciale attenzione, qualora la si ricolleghi alla osservazione di Levi ('12 c), che ha dimostrato come gli ovociti del *Geotriton* abbiano dei condriosomi filamentosi; non occorre insistere nel far rilevare la grande

importanza dottrinale che questa identità morfologica porta indiscutibilmente con sè.

Non possediamo dati positivi da cui desumere il vero destino citogenetico dei condriosomi maschili durante la segmentazione dell'uovo e durante la formazione dei primi abbozzi embrionarii. Del resto, neanche negli animali le di cui cellule sessuali posseggono dei condriosomi granulari (ad esempio nei Mammiferi), è ben conosciuto in quale guisa i condriosomi paterni penetrati nell'uovo cooperino alla costituzione del condrioma delle cellule embrionali. Nel materiale a condriosomi sessuali granulari, questi ultimi, nei primi stadii dello sviluppo embrionario, mostrerebbero la tendenza ad allungarsi [Duesberg ('10)] oppure a riunirsi [vedi anche Duesberg ('12 pag. 759)] in catenelle, per trasformarsi in quei filamenti lisci ed omogenei che sono i caratteristici condrioconti delle cellule embrionali.

Non è da escludersi che nel materiale caratterizzato da condriosomi filamentosi nelle cellule sessuali — un esempio del quale è il *Geotriton* — si abbia una derivazione diretta dei condrioconti embrionali da quelli germinali, fatto questo che avrebbe una notevole importanza: sia nel convalidare la legittimità di una omologizzazione dei condriosomi embrionali con quelli delle cellule sessuali, basata sulla identità della loro forma; sia nell'affermare ancora una volta la persistenza attraverso le varie fasi della vita cellulare, di codesti organuli a struttura costante.

Le ricerche di Levi ('11, '13) — che parlano in senso contrario alla teoria paraplastica di Meves e di Duesberg — si collegano a questo ordine di idee, in quanto hanno dimostrato la persistenza di condriosomi simili agli embrionali negli elementi adulti e la non partecipazione loro diretta al substrato morfologico della differenziazione cellulare: e con ciò la continuità delle individualità condriosomiche stesse (naturalmente soggette ad incremento) attraverso innumerevoli generazioni cellulari. Tali studii hanno indicato quale profondo significato bisogni annettere alla morfologia costante e alla intrasformabilità degli organuli condriosomici — qualora se ne arguisca una loro funzione direttiva, di presenza, nel determinismo dei processi istogenetici.

* * *

Noi abbiamo adunque seguito in tutto il ciclo spermatogenetico del *Geotriton* i condriosomi; dapprima atteggiati ad una particolare morfologia negli elementi prespermatocitici, essi acquistano ad un dato momento delle caratteristiche proprietà strutturali, le quali si mantengono costanti

per un lunghissimo periodo (di mesi) attraverso a divisioni cellulari e a complessi meccanismi trasformativi degli elementi cellulari — per venire in ultimo a situarsi nello spermatozoo, conservando invariata la forma che possedevano alla soglia del periodo di maturazione. Nessun' altra parte differenziata della cellula si mostra dotata di sì spiccata disposizione a mantenere la propria individualità, da persistere con una identica morfologia attraverso varie generazioni cellulari e attraverso al complicatissimo processo che trasforma lo spermatide in un elemento così altamente differenziato, in rapporto alla sua struttura e alla sua funzione, quale è lo spermatozoo.

Se è possibile o, meglio, necessario trarre da questi fatti la convinzione della grande importanza biologica dei condriosomi, è altrettanto possibile definire di quale natura essa sia, su quale funzione attuale o potenziale della cellula essa si rifletta?

L'ipotesi di Benda, che vedeva nei mitocondri (oltre che degli organuli presumibilmente depositarii di proprietà ereditarie) sopratutto un centro dei movimenti cellulari, non può nel nostro caso essere invocata; nello spermatozoo del *Geotriton* la parte mobile è solamente la coda (membrana ondulata) ed in essa è assente, eccezion fatta per una parte minima, l'involucro condriosomico.

Come è noto, Koltzoff è stato condotto dalle sue ricerche sugli spermatozoi dei Decapodi, alla ipotesi che i condriosomi rappresentino lo scheletro della cellula, della quale determinerebbero la particolar forma. Questa ipotesi della funzione di sostegno (sia essa essenziale o accessoria) — per quanto suggestiva — non può essere accettata nel nostro caso, quando si pensi che i condrioconti sono, nello spermatozoo del *Geotriton*, raggruppati solo nella porzione posteriore, assai limitata, della testa; non si vede per quale ragione debba esser necessaria una impalcatura per mantenere la forma di una porzione modica del cilindro cromatinico, se di esso la maggior parte può — senza pregiudizio della forma — esserne priva.

D'accordo con Duesberg ('12), ritengo che l'ufficio che attribuisce Koltzoff ai condriosomi sia soltanto occasionale e affatto accessorio. Vi sono infatti casi nei quali i condriosomi certamente non disimpegnano una funzione di sostegno ed altri, nei quali hanno evidentemente un tale ufficio formazioni non condriosomiche. Fra queste ultime, oltre al filamento spirale della testa degli spermatozoi dei Selaci, Duesberg pone le formazioni da Koltzoff ('08) studiate in taluni spermatozoi filiformi, anche di Urodeli: il filamento longitudinale e il filamento spirale — interposti fra la cromatina della testa e la membrana citoplasmatica che la involge. Informandomi alle mie osservazioni, io non saprei

invece escludere che codeste formazioni siano condriosomiche, per quanto di aspetto assai diverso da quello da me constatato.

L'ipotesi di Regaud ('09), secondo la quale il condrioma dello spermatozoo sarebbe una parte della cellula «jouant un rôle actuel de fixation et de concentration des substances ambiantes, destinées à être consommées lors de la contraction du filament axile» è — per quanto verosimile — troppo meramente ipotetica, perchè possa accampare diritti alla sua generalizzazione.

Secondo la nota ipotesi di Meves ('07, '08) il condrioma dello spermatozoo sarebbe da considerarsi come la sostanza idioplasmica del protoplasma; i condriosomi dell'uovo fecondato sarebbero i depositarii delle proprietà ereditarie del citoplasma. Diversi sono i dati su cui si posa codesta ipotesi, secondo la quale i condriosomi, dal punto di vista della localizzazione dei caratteri ereditarii sarebbero, di fronte al citoplasma, quello che i cromosomi sono di fronte al nucleo.

Il fatto che i condriosomi rappresentano la parte preponderante del citoplasma maschile che interviene nel meccanismo della fecondazione, è senza dubbio un buon argomento in favore dell' ipotesi di Meves, per coloro che ritengono che i condriosomi siano parte integrante del protoplasma; noi riteniamo, invece, che essi siano organuli individualizzati e ben distinti dal citoplasma propriamente detto (del quale del resto rimane uno strato a rivestire determinate parti dello spermatozoo).

Lo speciale comportamento dei condriosomi nella mitosi, mediante il quale si ha (salvo forse rare eccezioni) un'equa ripartizione del condrioma tra le due cellule figlie, talvolta con una divisione trasversale di condrioconti, mentre depone per la continuità dei condriosomi da una cellula madre alla figlia, è un fatto che richiama alle mente — specialmente per la sua analogia col processo cariocinetico — la possibilità di una localizzazione di caratteri ereditarii nei condriosomi. Come ho già detto più sopra, ritengo però almeno prematura la supposizione che assegna alle divisioni di maturazione, nei riguardi del condrioma, un particolar significato riduttivo simile a quello accertato per la sostanza cromatica del nucleo.

L'ultimo fatto sul quale è principalmente basata la convinzione di Meves è la supposta diretta trasformazione dei condrioconti delle cellule embrionali (formatisi a spese dei mitocondri sessuali) negli organuli fibrillari che formano il substrato della differenziazione cellulare. Malgrado le numerose ricerche che si accordano con quelle di Meves su questo punto, sono state avanzati anche dei fatti e delle idee che si oppongono a tal modo di vedere [Gurwitsch ('10 citato da Duesberg, '12), Levi ('11), ecc.]; per cui sarebbe invece da assegnarsi ai condriosomi (Levi) l'ufficio di

regolare con azioni direttive il processo della differenziazione cellulare.

Non intendo soffermarmi sulla questione della base morfologica dell'ereditarietà e se essa sia monopolio di alcune piuttosto che di altre parti della cellula, poichè uscirei in tal modo dai limiti dell'analisi obbiettiva e della discussione dei fatti che mi sono imposto. Tengo ad affermare però che — a mio giudizio — l'ipotesi che considera nei condriosomi i portatori delle proprietà ereditarie del citoplasma non sia sufficentemente resa probabile e convalidata dai fatti.

Malgrado che, adunque, le nostre conoscenze attuali non possano ancor darci fondatamente ragione del significato funzionale dei condriosomi, resta pur tuttavia ancora una volta e con particolar evidenza dimostrato dalle mie ricerche, che essi entrano a far parte integrale dello spermatozoo adulto, dopo aver partecipato in modo attivo e caratteristico alle varie fasi della vita cellulare nelle generazioni preseminali.

Spetta adunque ai condriosomi un importantissimo posto nel complesso cellulare poichè — come abbiamo dimostrato — gli organuli stessi si comportano secondo norme generali ben definite e costanti, che singolarmente avvalorano la loro dignità morfologica.

Elenco bibliografico.

Altmann, R. 1894. Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. Leipzig. 2. Aufl.

Ancel, P. 1902. Sur le Nebenkern des Spermatocytes d'Helix pomatia. Bibliogr. Anat. T. XI. Fasc. 3.

—— 1903. Histogenèse et structure de la glande hermaphrodite d'Helix pomatia. Arch. de Biol. T. XIX. 1902.

Arnold, G. 1908. The nucleolus and microchromosomes in the spermatogenesis of Hydrophilus piceus. Arch. f. Zellforsch. Bd. II.

Arnold, J. 1898. Über Struktur und Architektur der Zellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LII. 1898.

—— 1907. Plasmosomen, Granula, Mitochondrien, Chondriomiten und Netzfiguren. Anat. Anz. Bd. XXXI.

—— 1913. Das Plasma der somatischen Zellen im Lichte der Plasmosomen-Granulalehre und der Mitochondrienforschung. Anat. Anz. Bd. XLIII.

v. Baehr, W. B. 1909. Die Oogenese bei einigen viviparen Aphiden und die Spermatogenese von Aphis saliceti; mit besonderer Berücksichtigung der Chromatinverhältnisse. Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

Balbiani, G. 1869. Mémoires sur la génération des Aphides. Ann. d. Sc. Nat. sér. 5, Zool. T. XI.

Ballowitz, E. 1900a. Über die Membrana elastica posterior des Auges, seine Kerne und eine merkwürdige Struktur seiner großen Zellsphären usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LVI.

—— 1900b. Eine Bemerkung zu dem von Golgi und seinen Schülern beschriebenen «Apparato reticolare interno» der Ganglien- und Drüsenzellen. Anat. Anz. Bd. XVIII. Nr. 8.

—— 1906. Über einige Strukturen der Spermien des Spelerpes fuscus Bonap. Anat. Anz. Bd. XXVIII.

Barinetti, C. 1911. Di una fine particolarità di struttura nelle cellule dell'epitelio della cornea. Boll. Soc. Med.-Chirurgica di Pavia.

—— 1912. L'Apparato reticolare interno e la centrosfera nelle cellule di alcuni tessuti. Boll. Soc. Med.-Chirurgica di Pavia.

Benda, C. 1897. Neuere Mitteilungen über die Histogenese der Säugetierspermatozoen. Verh. d. physiol. Gesellsch. zu Berlin.

—— 1898. Über die Spermatogenese der Vertebraten und höherer Evertebraten. Verh. d. physiol. Gesellsch. zu Berlin.

—— 1899. Weitere Mitteilungen über die Mitochondria. Verh. d. physiol. Gesellsch. zu Berlin.

—— 1901. Die Mitochondrienfärbung und andere Methoden zur Untersuchung der Zellsubstanzen. Verh. d. Anat. Gesellsch. zu Bonn.

—— 1903. Die Mitochondria. Ergebn. der Anat. u. Entwickl. Bd. XII.

—— 1906. Die Spermiogenese der Monotremen. Die Spermiogenese der Marsupialen. Semons Zool. Forschungsreisen in Australien. Fischer, Jena.

Van Beneden, Ed. 1883. Nouvelles recherches sur la maturation de l'œuf, la fécondation et la division cellulaire. Arch. de Biol. T. IV.

Van Beneden, Ed. et Neyt. 1887. Nouvelles recherches sur la fécondation et la division mitotique chez l'Ascaris m. Bull. Acad. Roy. de Belgique.

v. Berenberg-Gossler, H. 1912a. Über gitter-kapselartige Bildungen in den Urgeschlechtszellen von Vogelembryonen. Anat. Anz. Bd. XL.

—— 1912b. Die Urgeschlechtszellen des Hühnerembryos am 3. und 4. Bebrütungstage, mit besonderer Berücksichtigung der Kern- und Plasmastrukturen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXXI. Abt. 2.

v. Bergen, J. 1904. Zur Kenntnis gewisser Strukturbilder (»Netzapparate«, »Saftkanälchen», »Trophospongien«) im Protoplasma verschiedener Zellenarten. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXIV.

Bolles Lee, A. 1895. La régression du fuseau caryocinétique. La cellule. T. XI.

—— 1896. Sur le »Nebenkern« et sur la formation du fuseau dans les spermatocytes des Helix. La cellule. T. XI.

—— 1898. Les «sphères attractives» et le «Nebenkern» des Pulmonées. Réponse à certaines objections. La cellule. T. XVI.

—— 1902. Nouvelles recherches sur le Nebenkern et la régression du fuseau caryocinétique. La cellule. T. XX.

Bonnevie, Kr. 1904. Zur Kenntnis der Spermiogenese bei den Gastropoden (Enteroxenos östergreni). Biol. Centralbl. Bd. XXIV.

—— 1906. Untersuchungen über Keimzellen. 1. Beobachtungen an den Keimzellen von Enteroxenos (östergreni). Jenaische Zeitschr. Bd. XLI.

Bouin, P. 1905. Ergastoplasme, Pseudochromosomes et Mitochondria. A propos des formations ergastoplasmiques des cellules séminales chez Scolopendra cingulata. Arch. de Zool. expérim. Vol. III.

Broman, J. 1907. Über Bau und Entwicklung der Spermien von Rana fusca. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

Brugnatelli, E. 1908. Di una fine particolarità di struttura degli epitelii dei tubuli renali. Boll. Soc. Med.-Chirurgica di Pavia.

v. Brunn, A. 1884. Beiträge zur Kenntnis der Samenkörper und ihrer Entwicklung bei Säugetieren und Vögeln. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXIII.

Buchner, P. 1909. Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

—— 1910. Von den Beziehungen zwischen Centriol und Bukettstadium. Arch. f. Zellforsch. Bd. V.

Bütschli, O. 1871a. Vorläufige Mitteilungen über die Entwicklung und den Bau der Samenfäden der Insekten. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XXI.

—— 1871b. Nähere Mitteilungen über die Entwicklung und den Bau der Samenfäden der Insekten. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XXI.

Byrnes, E. F. 1900. The maturation and fertilization of the Egg of Limax agrestis (Linné). Journ. of Morphol. Vol. XVI. Nr. 1.

Calkins, G. N. 1895. The spermatogenesis of Lumbricus. Journ. of Morphol. Vol. XI.

Champy, Ch. 1909. Mitochondries et corps chromatoïdes des Spermatogonies des Anoures. Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. LXVI. Nr. 5.

Ciaccio, C. 1909. Contributo alla distribuzione e alla fisiopatologia dei lipoidi. Arch. f. Zellforsch. Bd. V.

Comes, S. 1909. Sulla natura mitocondriale dell'«Apparato reticolare» della cellula cartilaginea. Boll. Accad. Gioenia, Catania. Fasc. 6.

—— 1910. La partecipazione dei mitocondri alla formazione della membrana divisoria primitiva. Att. Accad. Gioenia, Catania. Vol. III. Nr. 7.

Davis, H. S. 1908. Spermatogenesis in Acrididiae and Locustidae. Bull. Mus. Comp. Zool., Harvard. Vol. LIII.

Deineka, D. 1912. Der Netzapparat von Golgi in einigen Epithel- und Bindegewebszellen während der Ruhe und während der Teilung derselben. Anat. Anz. Bd. XLIV. Nr. 11. 1912.

Depdolla, Ph. 1905. Untersuchungen über die Spermatogenese von Lumbricus terrestris. Zool. Anz. Bd. XXVIII.

—— 1906. Beiträge zur Kenntnis der Spermatogenese beim Regenwurm. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXI.

De Somer, E. 1905. Les premiers stades de la vitellogénèse dans l'ovule de la Poule. Ann. de la Soc. de Méd. Gand.

D'Hollander, F. 1902. Le noyau vitellin de Balbiani et les pseudochromosomes chez les oiseaux. Verh. anat. Gesellsch. Halle.

—— 1904. Les «pseudochromosomes» dans les oogonies et les oocytes des oiseaux. Bibliogr. anat. T. XIII.

Dingler, M. 1910. Über die Spermatogenese des Dicrocoelium lanceatum Still. et Hass. (Distomum lanceolatum). Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. 1910.

Drüner. 1895. Studien über den Mechanismus der Zellteilung. Jen. Zeitschr. f. Naturwissensch. N. F. Bd. II.

Dubreuil, G. 1911. Le chondriome des globules blancs mononucléés et des cellules connectives, cartilagineuses et osseuses chez les Mammifères. Compt. rend. de la Soc. des Anatom. Réun. 3. Paris.

Duesberg, J. 1907. Der Mitochondrialapparat in den Zellen der Wirbeltiere und Wirbellosen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXI.

—— 1908a. Sur l'existence de mitochondries dans l'œuf et l'embryon d'Apis mellifica. Anat. Anz. Bd. XXXII.

—— 1908b. La Spermiogénèse chez le Rat. Arch. f. Zellforsch. Bd. II.

—— 1910a. Sur la continuité des éléments mitocondriaux des cellules sexuelles et des chondriosomes des cellules embryonnaires. Anat. Anz. Bd. XXXV.

—— 1910b. Les chondriosomes des cellules embryonnaires du Poulet et leur rôle dans la génèse des myofibrilles, avec quelques observations sur le développement des fibres musculaires striées. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.

—— 1910c. Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI.

—— 1912. Plastosomen, «Apparato reticolare interno» und Chromidialapparat. Ergebn. d. Anat. u. Entwickl. Bd. XX.

v. Erlanger, R. 1896a. Neuere Ansichten über die Struktur des Protoplasmas, die karyokinetische Spindel und das Centrosom. Zool. Centralbl. Jahrg. 3.

—— 1896b. Über den sogenannten Nebenkern in den männlichen Geschlechtszellen der Insekten. Zool. Anz. Bd. XIX.

—— 1896c. Spermatogenetische Fragen. II. Die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen. Zool. Centralbl. Jahrg. 3.

—— 1896d. Zur Kenntnis des feineren Baues des Regenwurmhodens und der Hodenzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVII.

—— 1896e. Über den feineren Bau der Epithelzellen der Kiemenblättchen der Salamanderlarve und ihre Teilung. Zool. Anz. Bd. XIX.

—— 1897a. Beiträge zur Kenntnis der Struktur des Protoplasma, der karyokinetischen Spindel und des Centrosoms. I. Über die Befruchtung und erste Teilung des Ascariseies. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIX.

—— 1897b. III. Über Spindelreste und den echten Nebenkern in den Hodenzellen. Zool. Centralbl. Jahrg. 4.

—— 1897c. IV. Über die sogenannte Sphäre in den männlichen Geschlechtszellen. Zool. Centralbl. Jahrg. 4.

Fauré-Frémiet, E. 1910a. La continuité des mitochondries à travers des générations cellulaires et le rôle de ces éléments. Anat. Anz. Bd. XXXVI.

—— 1910b. Etudes sur les mitochondries des Protozoaires et des cellules sexuelles. Arch. d'Anat. microsc. T. XI.

—— 1911. Mitochondries et grains brillantes dans la lignée spermatique de l'Ascaris megalocephala. Compt. rend. de l'Assoc. des Anatom. 13e Réun.

—— 1912. Sur la constitution des mitochondries des gonocytes de l'Ascaris megalocephala. Compt. rend. Soc. de Biol. T. LXXII.

——, Mayer, A. e Schaeffer, G. 1910a. Sur la microchimie des corps gras. Anat. Anz. Bd. XXXVI.

—— 1910b. Sur la microchimie des corps gras; applications à l'étude des mitochondries. Arch. d'Anat. microsc. T. XII.

Flemming, W. 1882. Zellsubstanz, Kern und Zellteilung.

—— 1895. Morphologie der Zelle. Ergebn. d. Anat. und Entwickl. Bd. V.

Flemming, W. 1897. Morphologie der Zelle. Ergebn. d. Anat. und Entwickl. Bd. VII.

Gérard, P. 1909. Recherches sur la Spermatogénèse chez Stenobothrus biguttulus (Linn.). Arch. de Biol. T. XXIV.

Giglio-Tos e Granata. 1908. I mitocondri nelle cellule sessuali maschili di Pamphagus marmoratus (Burm.). Biologica. T. II.

Goldschmidt, R. 1904. Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Histologische Untersuchungen an Nematoden. 2. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. XXI.

—— 1909. Das Skelet der Muskelzelle von Ascaris, nebst Bemerkungen über den Chromidialapparat der Metazoenzelle. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.

Golgi, C. 1898. Sulla struttura delle cellule nervose dei gangli spinali. Arch. ital. de Biol. Vol. XXX.

—— 1900. Intorno alla struttura delle cellule nervose della corteccia cerebrale. Verh. d. Anat. Gesellsch. in Pavia.

—— 1908. Di un metodo per la facile e pronta dimostrazione dell'apparato reticolare interno delle cellule nervose. Boll. Soc. Med.-Chirurgica di Pavia.

—— 1909a. Sulla struttura delle cellule nervose della corteccia del cervello. Boll. Soc. Med.-Chirurgica di Pavia.

—— 1909b. Di una minuta particolarità di struttura dell'epitelio della mucosa gastrica ed intestinale di alcuni Vertebrati. Arch. ital. de Biol. T. LI.

Granata, L. 1910. Le cinesi spermatogenetiche di Pamphagus marmoratus (Burm.). Arch. f. Zellforsch. Bd. V.

Gross, J. 1907. Die Spermatogenese von Pyrrhocoris apterus. Zool. Jahrb., Abt. f. Ont. Bd. XXIII.

Guillermond, A. 1912. Recherches cytologiques sur le mode de formation de l'amidon et sur les plastes des végétaux (leuco-chloro- et chromoplastes). Contribution à l'étude des mitochondries chez les végétaux. Arch. d'Anat. microscop. T. XIV.

Gurwitsch, A. 1900. Idiozom und Centralkörper im Ovarialei der Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LVI.

—— 1910. Die Hauptströmungen in der Cytologie des verflossenen Jahrzehnts (russo). Biol. Zeitschr. Bd. I. (cit. da Duesberg '12).

Heidenhain, M. 1892. Über Kern und Protoplasma. Festschrift f. Kölliker. Leipzig.

—— 1894. Neue Untersuchungen über die Centralkörper und ihre Beziehungen zum Kern und Zellenprotoplasma. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIII.

—— 1900. Über Centralkapseln und Pseudochromosomen in den Samenzellen von Proteus sowie ihr Verhältnis zu den Idiozomen, Chondriomiten und Archoplasmaschleifen. Anat. Anz. Bd. XVIII.

—— 1911. Plasma und Zelle. 2. Lief. G. Fischer, Jena.

—— 1912. Verhandl. d. Anat. Gesellsch. zu München (cit. da Berenberg-Gossler '12)

Held, H. 1912. Über den Vorgang der Befruchtung bei Ascaris megalocephal. Verhandl. d. Anat. Gesellsch., München. Bd. XLI.

Henneguy, L. F. 1896. Leçons sur la cellule. Paris.

—— 1904. Les Insectes; morphologie, reproduction, embryogénie. Masson édit., Paris.

Henschen, F. 1903. Zur Struktur der Eizelle gewisser Crustaceen und Gasteropoden. Anat. Anz. Bd. XXIV.

Hermann, F. 1891. Beitrag zur Lehre von der Entstehung der karyokinetischen Spindel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXVII.

—— 1897. Beiträge zur Kenntnis der Spermatogenese. Arch. f. mikr. Anat. Bd. L.

Hertwig, R. 1892. Über Befruchtung und Konjugation. Verhandlung der deutsch. zool. Gesellsch.

Hirschler, J. 1913. Über die Plasmastrukturen (Mitochondrien, Golgischer Apparat u. a.) in den Geschlechtszellen der Ascariden (Spermato- und Ovogenese). Arch. f. Zellforsch. Bd. IX.

Holmgren, E. 1900. Von den Ovocyten der Katze. Anat. Anz. Bd. XVIII.

Holmgren, M. 1902. Über den Bau der Hoden und die Spermatogenese von Silpha carinata. Anat. Anz. Bd. XXII.

Jordan, H. E. 1911. The spermatogenesis of the Opossum (Didelphys virginiana), with special reference to the accessory chromosome and the chondriosomes. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII.

—— 1912. Notes on the spermatogenesis of the Bat. Anat. Anz. Bd. XL.

Jörgensen, M. 1910. Zur Entwicklung des Eierstockeies von Proteus anguineus (Grottenolm). Die Wachstumsperiode. Festschrift f. R. Hertwig. Bd. I. Fischer, Jena.

Koltzoff, N. K. 1906. Studien über die Gestalt der Zelle. I. Untersuchungen über die Spermien der Decapoden, als Einleitung in das Problem der Zellengestalt. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVII.

—— 1908. Studien über die Gestalt der Zelle. II. Untersuchungen über das Kopfskelet des tierischen Spermiums. Arch. f. Zellforsch. Bd. II.

Kopsch, Fr. 1902. Die Darstellung des Binnennetzes in spinalen Ganglienzellen und andern Körperzellen mittels Osmiumsäure. Sitzungsberichte d. k. preuß. Akad. d. Wissensch. zu Berlin. Bd. XL.

Kostanecki, K. 1897a. Über die Bedeutung der Polstrahlung während der Mitose und ihr Verhältnis zur Teilung des Zelleibes. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIX.

—— 1897b. Über die Mechanik der Zelleibsteilung bei der Mitose. Akad. d. Wissenschaft. Krakau.

Köster, H. 1910. Morphologie und Genese der Spermatozoen von Gammarus pulex. Zool. Anz. Bd. XXXV.

Kuschakewitsch, S. 1911. Über die Entwicklung der Spermien bei Conus mediterraneus Brug. und Vermetus gigas Biv. (vorläuf. Mitteil.). Biol. Centralblatt. Bd. XXXI.

—— 1913. Studien über den Dimorphismus der männlichen Geschlechtselemente bei den Prosobranchia. I. Arch. f. Zellforsch. Bd. X.

Lams, H. 1908. Les divisions des Spermatocytes chez la fourmi (Camponotus herculaneus). Arch. f. Zellforsch. Bd. I.

—— 1910. Recherches sur l'œuf de Cobaye (Cavia cobaya). Maturation, fécondation, segmentation. Compt. rend. Accos. Anat, Bruxelles.

—— c Doorme, J. 1908. Nouvelles recherches sur la maturation et la fécondation de l'œuf des Mammifères. Arch. de Biol. T. XXIII.

Lauterborn, R. 1896. Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen. Leipzig.

Lenhossék, M. 1898. Untersuchungen über Spermatogenese. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LI.

Leplat, G. 1910. La spermiogénèse chez le Chat. Arch. de Biol. Bd. XXV.

Levi, G. 1911. Sulla presunta partecipazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare. Arch. Ital. di Anat. e di Embriol. Vol. X.

—— 1912a. I condriosomi dei gonociti. Monit. Zoolog. Ital. An. 23.

—— 1912b. Come possono essere eliminati gli inconvenienti delle fissazioni osmiche. Monit. zoolog. Ital. An. 23.

—— 1912c. I condriosomi nell'oociti degli Anfibi. Monit. zool. Ital. An. 23.

—— 1912d. I condriosomi delle cellule secernenti. Anat. Anz. Bd. XLII.

Loyez, M. 1906. Recherches sur le développement ovarien des œufs méroblastiques à vitellus nutritif abondant. Arch. d'Anat. micr. T. VIII.

—— 1909. Le corps vitellin de l'oocyte de Pyrrhocoris apterus. Arch. d'Anat. micr. T. X.

Metzner, R. 1894. Beiträge zur Granulalehre. I. Kern und Kernteilung. Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt.

Meves, Fr. 1894. Über eine Metamorphose der Attraktionssphäre in den Spermatogonien von Salamandra maculosa. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIV. 1894.

—— 1896. Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von Salamandra maculosa. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVIII.

—— 1897a. Über Struktur und Histogenese der Samenfäden von Salamandra maculosa. Arch. f. mikr. Anat. Bd. L.

—— 1897b. Zellteilung. Ergebn. d. Anat. u. Entwickl. Bd. VI.

—— 1899a. Zellteilung. Ergebn. d. Anat. u. Entwickl. Bd. VIII.

—— 1899b. Über Struktur und Histogenese der Samenfäden des Meerschweinchens. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LIV.

—— 1900. Über den von La Valette St. George entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LVI.

—— 1903. Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung, nach Beobachtungen an Paludina und Pygaera. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXI.

—— 1907a. Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene (Apis mellifica Linn.) nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

—— 1907b. Über Mitochondrien bzw. Chondriokonten in den Zellen junger Embryonen. Anat. Anz. Bd. XXXI.

—— 1907c. Die Chondriokonten in ihrem Verhältnis zur Filarmasse Flemmings. Anat. Anz. Bd. XXXI.

—— 1908. Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXII.

—— 1910a. Über Strukturen in den Zellen embryonalen Stützgewebes, sowie über die Entstehung der Bindegewebsfibrillen, insbesondere derjenigen der Sehne. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXV.

—— 1910b. Zur Einigung zwischen Faden- und Granulalehre des Protoplasma. Beobachtungen an weißen Blutzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXV.

—— 1910c. Über Aussaat männlicher Mitochondrien im Ei bei der Befruchtung. Anat. Anz. Bd. XXXVI.

—— 1911a. Über die Beteiligung der Blastochondrien an der Befruchtung des Eies von Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXVI.

—— 1911b. Zum Verhalten des sog. Mittelstückes des Echinidenspermiums bei der Befruchtung. Vorl. Mitt. Anat. Anz. Bd. XL.

Meves, Fr. 1912a. Weitere Beobachtungen über das Verhalten des Mittelstückes des Echinidenspermiums bei der Befruchtung. Anat. Anz. Bd. XL.

—— 1912b. Verfolgung des sogenannteu Mittelstückes des Echinidenspermiums im befruchteten Ei bis zum Ende der ersten Furchungsteilung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXX.

Meves, Fr. und Duesberg. 1908. Die Spermatocytenteilungen bei der Hornisse (Vespa crabro). Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLI.

Montgomery. Th. jr. 1911. The spermatogenesis of an Hemipteron, Euschistus. Journ. of Morphol. Vol. XXII.

Moore, J. E. S. 1893. On the Relationship and Rôle of the Archoplasma during Mitosis in the Larval Salamander. Quart Journ. of Microsc. Sc. Vol. XXXIV.

—— 1895. On the structural changes in the reproductive cells during the Spermatogenesis of Elosmobranchs. Quart. Journ. of microsc. sc. Vol. XXXVIII.

Morse, M. 1909. The nuclear components of the sex-cells of four species of cockroaches. Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

Murray, J. A. 1898. Contributions to a Knowledge of the Nebenkern in the Spermatogenesis of Pulmonata — Helix a. Arion. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog. Bd. XI.

Nusbaum, J. 1913. Über den sogenannten inneren Golgischen Netzapparat und sein Verhältnis zu den Mitochondrien, Chromidien und andern Zellstrukturen im Tierreich. Arch. f. Zellforsch. Bd. X.

Oettinger, R. 1909. Zur Kenntnis der Spermatogenese bei den Myriopoden. Samenreifung und Samenbildung bei Pachyulus varius Fabr. Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

Otte, H. 1907. Samenreifung und Samenbildung von Locusta viridissima. I e II. Zoolog. Anz. Bd. XXX.

Pantel, J. et de Sinéty. 1906. Les cellules de la lignée mâle chez Notonecta glauca. La cellule. T. XXII.

Pensa, A. 1912. Osservazioni di morfologia e biologia cellulare nei vegetali (Mitocondri, cloroplasti). Arch. f. Zellforsch. Bd. VIII.

Perroncito, A. 1910. Contributo allo studio della biologia cellulare. Mitocondri, cromidii e apparato reticolare interno nelle cellule spermatiche. Reale Accademia dei Lincei. Vol. VIII.

Pilat, M. 1912. Der intracellulare »Netzapparat« in den Epithelzellen der Nebenniere vom Igel (Erinaceus europaeus). Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXX.

Platner, G. 1886a. Über die Entstehung des Nebenkerns und seine Beziehung zur Kernteilung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXVI.

—— 1886b. Zur Bildung der Geschlechtsprodukte bei den Pulmonaten. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXVI.

—— 1889a. Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Teilungserscheinungen I. Zellteilung und Samenbildung in der Zwitterdrüse von Limax agrestis. II. Samenbildung und Zellteilung bei Paludina vivipara und Helix pomatia. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXIII.

—— 1889b. Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Teilung. V. Samenbildung und Zellteilung im Hoden der Schmetterlinge. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXIII.

Popoff, M. 1907. Eibildung von Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Mit Anhang: Zu der Frage nach dem Spermatozoendimorphismus bei Paludina vivipara. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

Prenant, A. 1898 et 1899. Sur le protoplasma supérieur (archiplasme, kinoplasme, ergastoplasme). Etude critique. Journ. de l'Anat. et de la Physiol. T. XXXV.

—— 1911. Problèmes cytologiques généraux soulevés par l'étude des cellules musculaires. Journ. de l'Anat. et de la Physiol. T. XLVII.

Prowazek, S. 1902. Spermatologische Studien. 1. Spermatogenese der Weinbergschnecke (Helix pomatia). 2. Spermatogenese des Nashornkäfers (Oryctes nasicornis). Arbeiten a. d. zool. Instit. Wien u. Triest. Bd. XIII.

Rawitz, B. 1896. Untersuchungen über Zellteilung. I. Das Verhalten der Attraktionssphäre bei der Einleitung der Spermatocyten von Salamandra maculata. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVII.

—— 1898. Untersuchungen über Spermatogenese. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LIII.

Regaud, Cl. 1908. Sur les mitochondries de l'épithelium séminal. Compt. rend. Soc. Biol. T. LXV.

—— 1909a. Attribution aux «formations mitochondriales» de la fonction générale d'extraction et de fixation électives, exercée par les cellules vivantes sur les substances dissoutes dans le milieu ambiant. Compt. rend. Soc. Biol. T. LXVI.

—— 1909b. Sur la signification physiologique du chondriome des cellules sexuelles mûres, et notamment des spermatozoïdes. Compt. rend. Soc. Biol. T. LXVII.

—— 1910. Etude sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogénèse chez les Mammifères. Arch. d'Anat. micr. T. XI.

Retzius, G. 1906a. Die Spermien der Enteropneusten und der Nemertinen. Biol. Untersuch. Neue Folge. Bd. XIII.

—— 1906a 1. Die Spermien der Amphibien. Ibidem.

—— 1906b. Die Spermien der Reptilien. Ibidem.

—— 1906c. Die Spermien der Monotremen. Ibidem.

—— 1906d. Die Spermien der Marsupialer. Ibidem.

—— 1906e. Die Spermien der Edentaten. Ibidem.

—— 1906f. Die Spermien der Vespertilionen. Ibidem.

—— 1909a. Zur Kenntnis der Spermien der Elasmobranchier. Biol. Untersuch. Neue Folge. Bd. XIV.

—— 1909b. Die Spermien der Vögel. Ibidem.

—— 1909c. Die Spermien der Didelphys. Ibidem.

—— 1909d. Die Spermien von Bradypus. Ibidem.

—— 1909e. Die Spermien der Insektivoren. Ibidem.

—— 1909f. Die Spermien der Nagetiere. Ibidem.

—— 1909g. Die Spermien der Huftiere. Ibidem.

—— 1909h. Die Spermien der Carnivoren. Ibidem.

—— 1909i. Die Spermien der Halbaffen. Ibidem.

—— 1909l. Die Spermien der Affen. Ibidem.

—— 1909m. Die Spermien des Menschen. Ibidem.

—— 1909n. Kurzer Rückblick auf die Spermien der Säugetiere. Ibidem.

—— 1910a. Über den Bau des Eies der Echinodermen im unbefruchteten und befruchteten Zustande. Biol. Untersuch. Neue Folge. Bd. XV.

—— 1910b. Weitere Beiträge zur Kenntnis der Spermien mit besonderer Berücksichtigung der Kernsubstanz. Ibidem.

Retzius, G. 1912. Zur Frage von dem Problem der Protoplasmastruktur. Biol. Untersuch. Neue Folge. Bd. XVII.

Romieu, M. 1911. Sur la valeur de la réduction plasmatique dans la spermatogénèse. Compt. rend. Soc. Biol. T. LXX.

Rubaschkin, W. 1907. Über das erste Auftreten und Migration der Keimzellen bei Vögelembryonen. Anat. Hefte. Bd. XXXV.

—— 1909. Über die Urgeschlechtszellen bei Säugetieren. Anat. Hefte. Bd. XXXIX.

—— 1910. Chondriosomen und Differenzierungsprozesse bei Säugetierembryonen. Anat. Hefte. Bd. XLI.

—— 1912. Zur Lehre von der Keimbahn bei Säugetieren. Über die Entwicklung der Keimdrüsen. Anat. Hefte. Bd. XLVI.

Schäfer, F. 1907. Die Spermatogenese von Dytiscus. Zool. Jahrb., Abt. f. Ont. Bd. XXIII.

Schaxel, J. 1911. Plasmastrukturen, Chondriosomen und Chromidien. Anat. Anz. Bd. XXXIX.

Sinigaglia, G. 1910. Osservazioni sulla struttura dei globuli rossi. Arch. per le Scienze med. Vol. XXXIV.

Sjövall, E. 1906. Ein Versuch, das Binnennetz von Golgi-Kopsch bei der Spermato- und Ovogenese zu homologisieren. Anat. Anz. Bd. XXVIII.

Sokolow, J. 1913. Untersuchungen über die Spermatogenese bei den Arachniden. I. Über die Spermatogenese der Skorpione. Arch. f. Zellforsch. Bd. IX.

Spitschakoff, Th. 1909. Spermien und Spermiohistogenese bei Cariden. Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

Terni, T. 1911a. La Spermatogenesi del Geotriton fuscus. Arch. di ital. Anat. e di Embriol. Vol. X.

—— 1911b. Sul comportamento dei condriosomi durante le divisioni di maturazione (Nota prelimin.). Arch. ital. di Anat. e di Embriol.

—— 1912a. Dimostrazione di condrioconti nel vivente. Anat. Anz. Bd. XLI.

—— 1912b. Sulla presenza di condrioconti e sul loro comportamento durante il periodo istogenetico dello spermatozoo (Nota prelimin.). Arch. ital. di Anat. e di Embriol. Vol. XI.

—— 1913. Sull'esistenza di condrioconti nella testa degli spermatozoi adulti di Urodeli. Monit. zoolog. Ital. An. 24.

Tretjakoff, D. 1905. Die Spermatogenese von Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXV.

Tschaschin, S. 1910. Über die Chondriosomen der Urgeschlechtszellen bei Vögelembryonen. Anat. Anz. Bd. XXXVII.

v. la Valette St. George, A. 1867. Über die Genese der Samenkörper. Zweite Mitteilung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. III.

—— 1886a. Spermatologische Beiträge. Zweite Mitteilung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXVII.

—— 1886b. Spermatologische Beiträge. Vierte Mitteilung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXVIII.

—— 1887. Zellteilung und Samenbildung bei Forficula auricularia. Festschrift f. Kölliker.

Van der Stricht, O. 1902a. Les pseudochromosomes dans l'oocyte de chauve-souris. Compt. rend. Assoc. Anat. à Montpellier.

Van der Stricht, O. 1902b. Le spermatozoïde dans l'œuf de chauve-souris (V. noctula). Verh. d. anat. Gesellsch. Halle.

—— 1904. La structure de l'œuf des Mammifères. I. Partie: L'oocyte au stade d'accroissement. Arch. d. Biol. T. XXI.

—— 1909. La structure de l'œuf des Mammifères (Chauve-souris, Vesperugo noctula) 3. Partie: L'oocyte à la fin du stade d'accroissement, au stade de la maturation, au stade de la fécondation et au début de la segmentation. Mém. de l'Acad. Roy. de Belgique.

Vejdowsky, F. 1907. Neue Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung. Kön. Böhm. Ges. der Wissensch. Prag.

Vejdowsky, F. und Mracek. 1903. Umbildung des Cytoplasmas während der Befruchtung und Zellteilung. Nach den Untersuchungen am Rhynchelmisei. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXII.

Verson, S. 1908. Contributo allo studio delle cellule giganti tubercolari e di altri elementi cellulari normali e patologici. Arch. per le Scienze med. Vol. XXXII.

Voinov, D. N. 1913. La Spermatogénèse d'été chez Cybister Roeselii. Arch. d. Zool. exp. 3. sér. Vol. I.

Waldeyer, W. 1906. Die Geschlechtszellen. Handb. d. vergl. u. exp. Entwicklungslehre der Wirbeltiere. Herausgeg. von O. Hertwig. Bd. I.

Wassilieff, A. 1907. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

Weber, A. 1913. A propos de la structure des filaments de l'aster. Compt. rend. Soc. Biol. T. LXXIV.

Weigl, R. 1912. Vergleichend-cytologische Untersuchungen über den Golgi-Kopschschen Apparat und dessen Verhältnis zu andern Strukturen in den somatischen Zellen und Geschlechtszellen verschiedener Tiere. Bull. de l'Acad. d. Sc. de Cracovie. Śrie B. Sc. Nat. Cracovie.

Wilke, G. 1907. Die Spermatogenese von Hydrometra lacustris. Jen. Zeitschr. f. Nat. Bd. XLII.

—— 1913. Chromatinreifung und Mitocondrienkörper in der Spermatogenese von Hydrometra paludum Fabr. Arch. f. Zellforsch. Bd. X.

Winiwarter, v., K. 1900. Recherches sur l'ovogénèse e l'organogénèse de l'ovarie des Mammifères. Arch. de Biol. T. XVII.

—— 1912. Etudes sur la spermatogénèse humaine. I, II. Arch. de Biol. Bd. XXVII.

Zawarzin, A. 1909. Beobachtungen an dem Epithel der Descemetschen Membran. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXIV.

Zoja, L. e R. 1891. Intorno ai plastiduli fucsinofili (bioblasti dell'Altmann). Mem. del R. Ist. Lomb. di scienze e lett. Vol. XVI.

Zweiger, H. 1907. Die Spermatogenese von Forficula auricularia. L. Jenaische Zeitschr. Bd. XLII.

Spiegazione delle tavole I—VII.

Tutte le figure furono disegnate coll'aiuto dell'Apparecchio Zeiss. Eccettuata la figura 51, che è tolta da sperma raccolto dal dotto di Leydig, tutte le altre figure furono ricavate da sezioni di testicoli appartenenti a *Geotriton fuscus*. Meno le figure 1, 2, 3 e 45 (le quali furono ricavate da testicoli fissati in liquido di Maximow modificato) e la figura 13 bis (tolta da materiale fissato in liquido di Flemming) — tutte le altre figure furono disegnate da materiale fissato col procedimento di Benda pei Mitocondri. In tutto il materiale qui riprodotto — eccetto che per la fig. 51 (ricavata da un preparato, il cui trattamento è specificato nella spiegazione annessa) — si operò l'imbianchimento delle sezioni e l'ematossilina Heidenhain. L'ingrandimento indicato si riferisce agli originali delle figure; nella riproduzione la grandezza delle figure venne ridotta di poco più di $^1/_4$.

Fig. 1. Spermatogonio primitivo (Archispermatocita). Ingr. 2800×.

Fig. 2. Spermatogonio delle prime generazioni. Ingr. 2800×.

Fig. 3. Spermatogonii delle ultime generazioni. Ingr. 1800×.

Fig. 4. Spermatocita all'inizio del periodo di accrescimento. Ingr. 2800×.

Fig. 5. Auxocita più evoluto del precedente. Ingr. 2800×.

Fig. 6. Spermatociti giunti quasi al termine del periodo di accrescimento. Ingr. 2800×.

Fig. 7. Auxocita nello stadio terminale della sua evoluzione. Ingr. 2800×.

Fig. 8. Auxocita, nello stadio della Fig. 7, tagliato trasversalmente al maggior asse (a livello dell'idiozoma). Ingr. 2800×.

Fig. 9. Auxociti nello stadio della Fig. 7. Ingr. 1800×.

Fig. 10. Profase iniziale della I^a^ divisione di maturazione. Ingr. 2800×.

Fig. 11. Stadio profasico, più avanzato del precedente, della I^a^ divisione di maturazione. Ingr. 2800×

Fig. 12. I^a^ profase più avanzata dello stadio precedente. Ingr. 2800×.

Fig. 13. Elemento che si trova nello stadio della Fig. 12, sezionato (perpendicolarmente al suo maggior asse) a livello dell'idiozoma. Ingr. 2800×.

Fig. 13 bis. Idem.

Fig. 14. Stadio della I^a^ profase alquanto più inoltrato di quello della Fig. 12. Ingr. 2800×.

Fig. 15. Stadio ulteriore della I^a^ profase. Ingr. 2800×.

Fig. 16. Stadio terminale della I^a^ profase. Ingr. 2800×.

Fig. 17. Inizio della I^a^ metafase. Ingr. 2800×.

Fig. 18. I^a^ metafase inoltrata. Ingr. 2800×.

Fig. 19. Momento inziale della I^a^ anafase. Ingr. 2800×.

Fig. 20. Stadio della I^a^ anafase più avanzato del precedente. Ingr. 2800×.

Fig. 21. Elemento che si trova in uno stadio simile a quello della Fig. 20, sezionato trasversalmente al suo maggior asse (a livello, circa, del piano equatoriale). Ingr. 2800×.

Fig. 22. Momento della I^a^ anafase leggermente più inoltrato di quello della Fig. 20. Ingr. 2800×.

Fig. 23. Elemento anafasico che si trova in uno stadio appena successivo a quello della figura precedente, sezionato trasversalmente a livello del piano equatoriale.

Fig. 24. Anafase della I^a^ divisione di maturazione. Ingr. 2800×.

Fig. 25. Idem.

Fig. 26. Momento terminale della I^a^ anafase. Ingr. 2800×.

Fig. 27. I^a^ telofase iniziale. Ingr. 2800×.

Fig. 28. Diversi momenti anafasici della I^a^ divisione di maturazione. Ingr. 1800×.

Fig. 29. Intercinesi. Spermatociti del II° ordine da poco emersi dalla I^a^ divisione di maturazione. Ingr. 2800×.

Fig. 30. Intercinesi. Spermatocita del II° ordine all'approssimarsi della II^a^ profase. Ingr. 2800×.

Fig. 31. Inizio della II^a^ profase. Ingr. 2800×.

Fig. 32. Momento della II^a^ profase un poco più avanzato di quello della figura precedente. Ingr. 2800×.

Fig. 33. Stadio tardivo della II^a^ profase. Ingr. 2800×.

Fig. 34. Stadio terminale della II^a^ profase. Ingr. 2800×.

Fig. 35. Metafase della II^a^ divisione di maturazione. Ingr. 2800×.

Fig. 36. Anafase della II^a^ divisione di maturazione. Ingr. 2800×.

Fig. 37. Momento della II^a^ anafase più progredito del precedente. Ingr. 2800×.

Fig. 38. Stadio terminale della II^a^ anafase. Ingr. 2800×.

Fig. 39. Fine dell'anafase e inizio della telofase della II^a^ divisione di maturazione. Ingr. 2800×.

Fig. 40. Telofase iniziale della II^a^ divisione di maturazione. Ingr. 2800×.

Fig. 41. Stadio quasi terminale della II^a^ telofase. Ingr. 2800×.

Fig. 42. Due spermatidi appena emersi dalla II^a^ divisione di maturazione. Ingr. 2800×.

Fig. 43. Giovane spermatide. Ingr. 2800×.

Fig. 44. Spermatide nel primo periodo della sua metamorfosi. Ingr. 2800×.

Fig. 45. Spermatide all'inizio del secondo periodo della spermatistogenesi. Ingr. 2800×.

Fig. 46. Spermatide in una fase che segue da presso quella della figura precedente. Ingr. 2800×.

Fig. 47a. Spermatide in cui va progredendo l'allungamento del nucleo. Ingr. 2800×.

Fig. 47b. Sezione trasversale di uno spermatide allo stesso stadio della fig. 47a, condotta a livello della porzione anteriore del nucleo. Ingr. 2800×.

Fig. 47c. Sezione trasversale di uno spermatide allo stesso stadio della fig. 47a, condotta a livello della porzione posteriore del nucleo. Ingr. 2800×.

Fig. 48a. Spermatide già molto allungato. La figura riproduce l'estremità anteriore colla vescicola idiozomica apicale e il terzo posteriore dell'elemento; i $^2/_3$ anteriori vennero omessi. Ingr. 2800×.

Fig. 48b. Sezione trasversale di uno spermatide, allo stesso stadio di sviluppo di quello della Fig. 48a, condotta a livello della parte posteriore della testa. Ingr. 2800×.

Fig. 49a. Spermatide in uno stadio assai più progredito di quello della Fig. 48a. È riprodotta solo una breve porzione della parte posteriore dell'elemento. Ingr. 2800×.

Fig. 49b. Sezione trasversale di uno spermatide allo stesso stadio di quello della Fig. 49a, condotta a livello della porzione anteriore della testa. Ingr. 2800×.

Fig. 49c. Sezione trasversale di uno spermatide allo stesso stadio della Fig. 49a, che cade a livello del collo dello spermatozoo (corpuscolo centrale prossimale allungato). Ingr. 2800×.

Fig. 50a—e. Sezioni trasverse condotte a diverso livello su spermatidi che si trovano ad uno stesso grado di evoluzione molto progredito (ultimo periodo della spermatistogenesi): *a* — a livello della porzione anteriore della testa; *b* — a livello della porzione posteriore della testa; *c* — a livello del collo; *d* — a livello della coda (appaionole sezioni trasversali del filamento assile scavato a doccia, del semianello del pessario centrosomico e della membrana ondulata); *e* — sezione pure a livello della coda, ma più posteriore della precedente (appaiono le sezioni trasversali del filamento assile e della membrana ondulata). Ingr. 2800 ×.

Fig. 51. Spermatozoo che, dopo 3 giorni di permanenza in una soluzione al 7% di NaCl, è stato fissato in liquido di Flemming-Benda e successivamente colorato col metodo di Altmann. Ingr. 1700×.



Fig. 1



Fig. 2

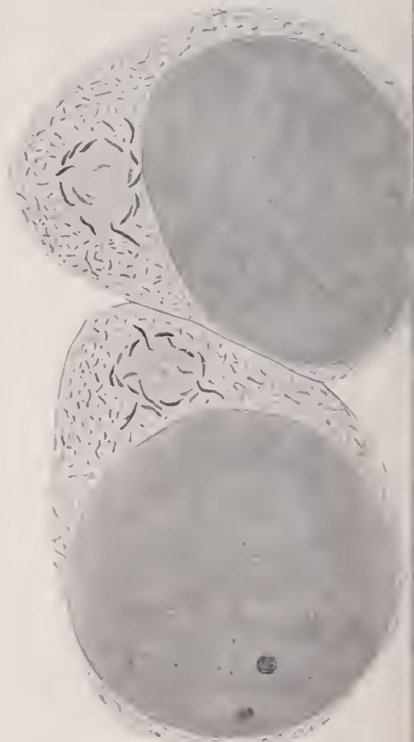


Fig. 4

Terni.

Verlag von Wilhelm Engel

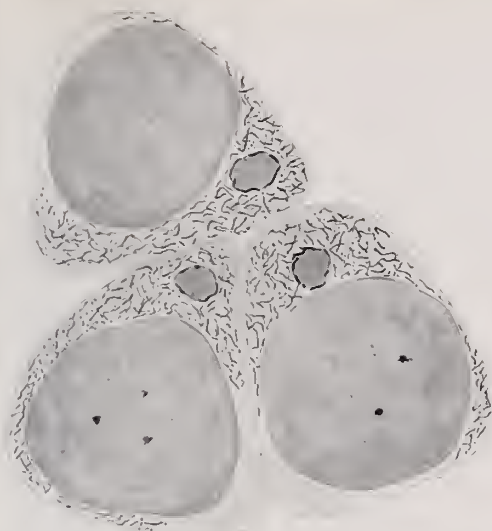


Fig. 3

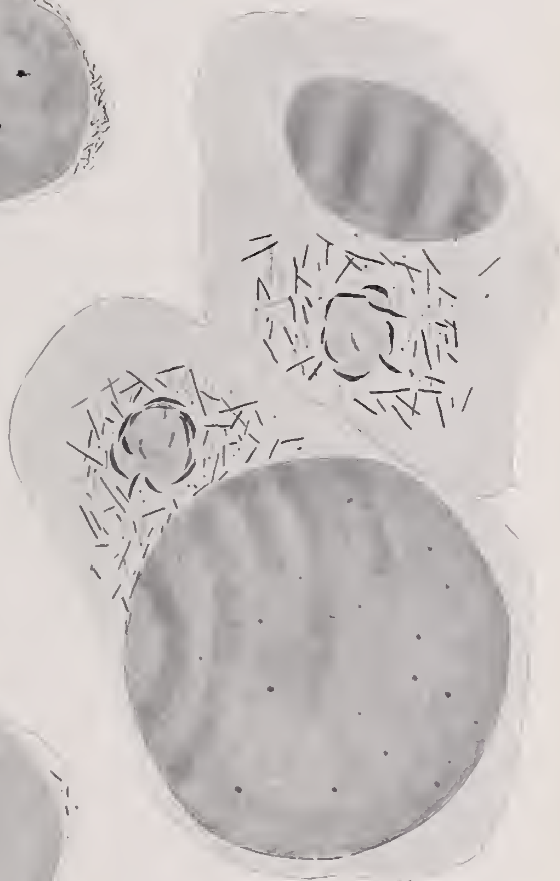


Fig. 6



Fig. 5



Fig. 7



Fig. 8

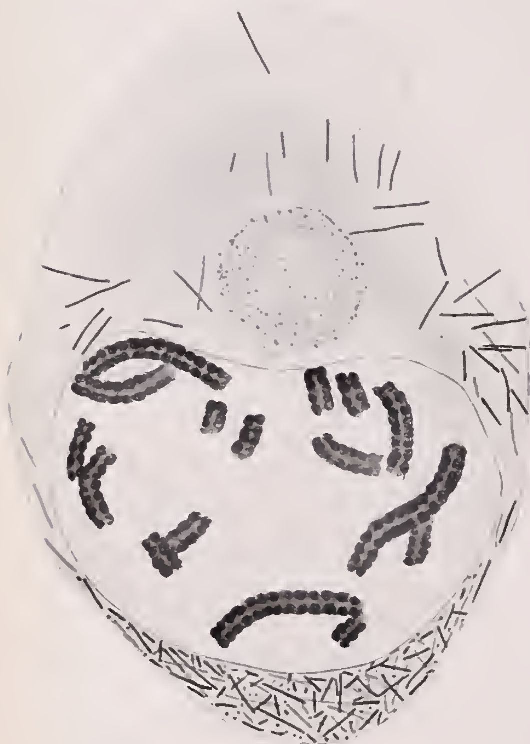


Fig. 11



Fig. 12

Terni.

Verlag von Wilhelm Engelm

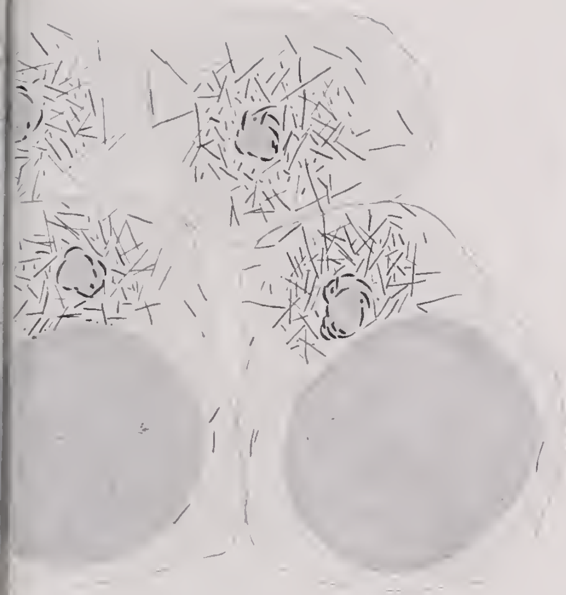


Fig. 9



Fig. 10



Fig. 13

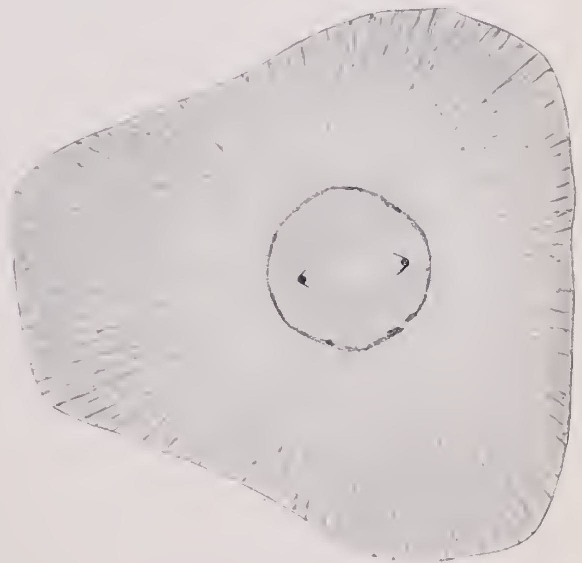


Fig. 13 bis

ı in Leipzig und Berlin.



Fig. 14

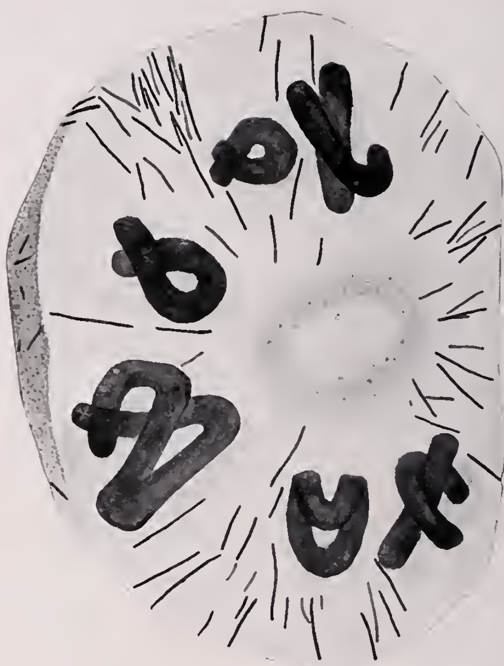


Fig. 15

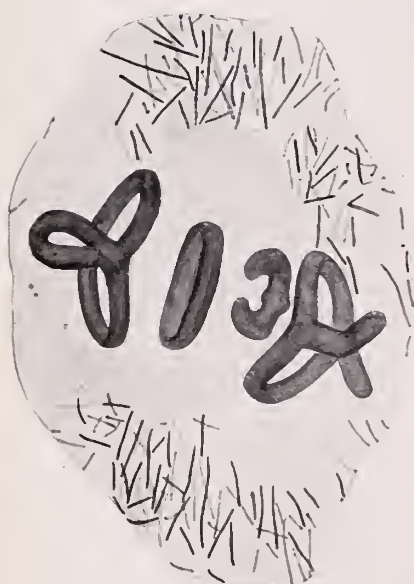


Fig. 18



Fig. 19

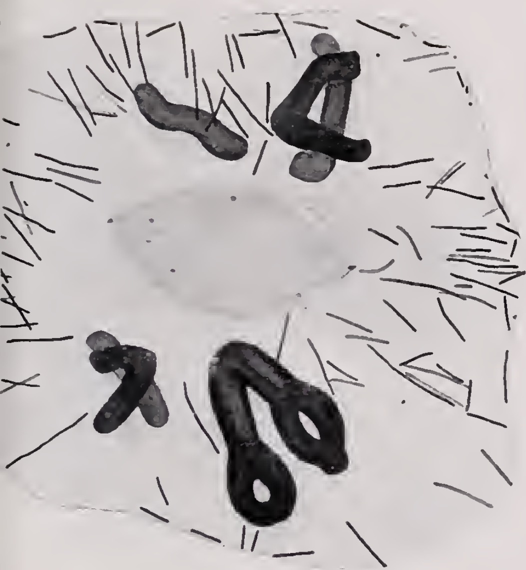


Fig. 16

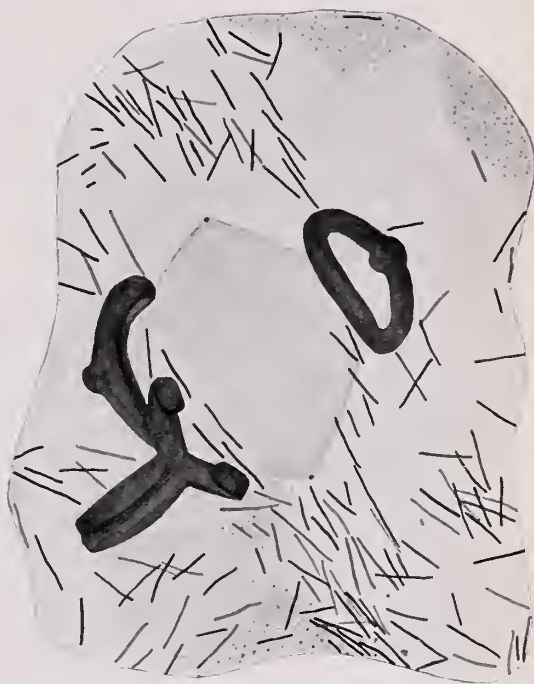


Fig. 17

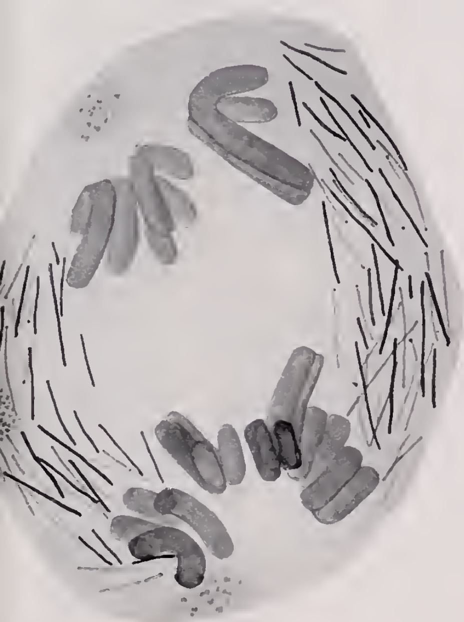


Fig. 20

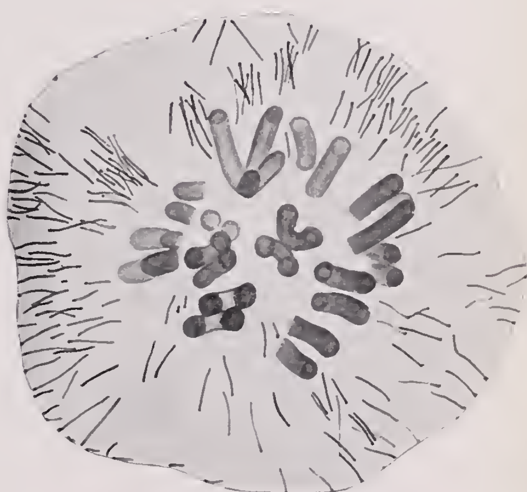


Fig. 21

..nn in Leipzig und Berlin.

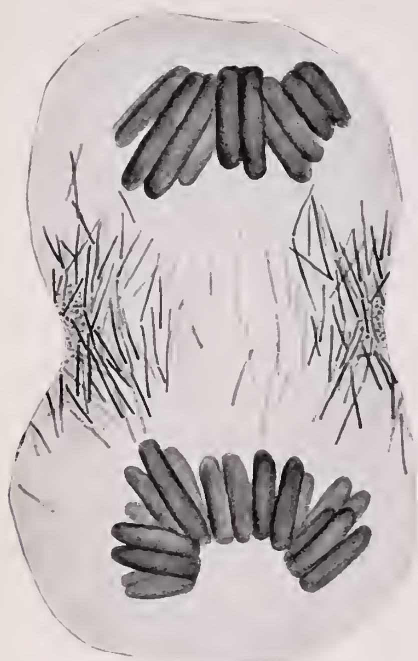


Fig. 22



Fig. 23



Fig. 25



Fig. 26

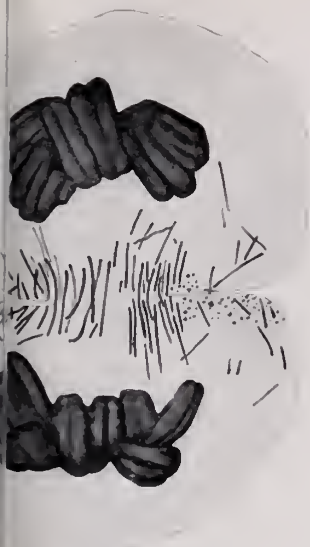
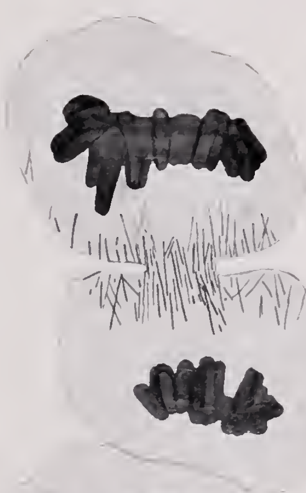
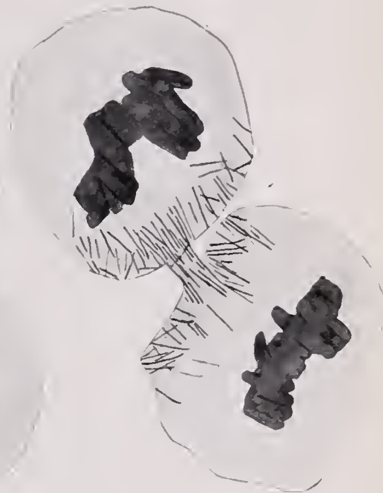


Fig. 24





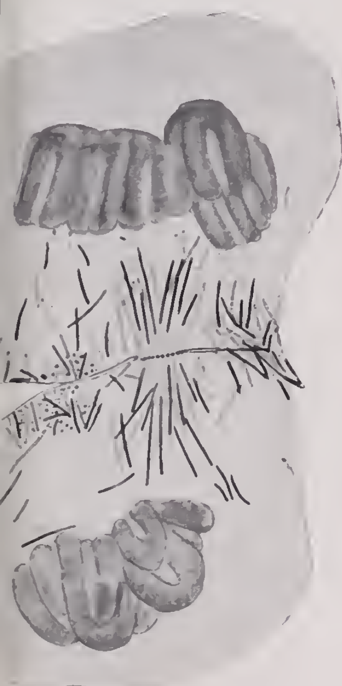


Fig. 27



Fig. 28

ıann in Leipzig und Berlin.

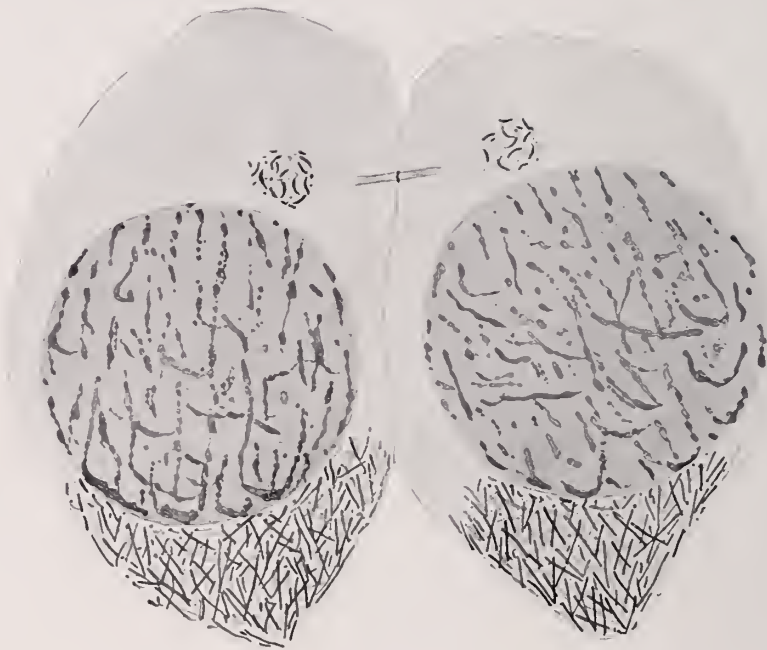


Fig. 29



Fig. 32



Fig. 33

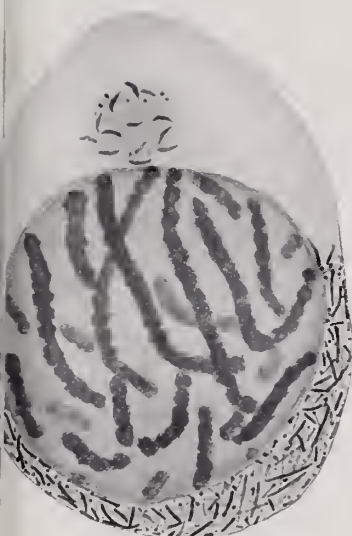


Fig. 30



Fig. 31



Fig. 34



Fig. 35

ann in Leipzig und Berlin.



Fig. 36



Fig. 37

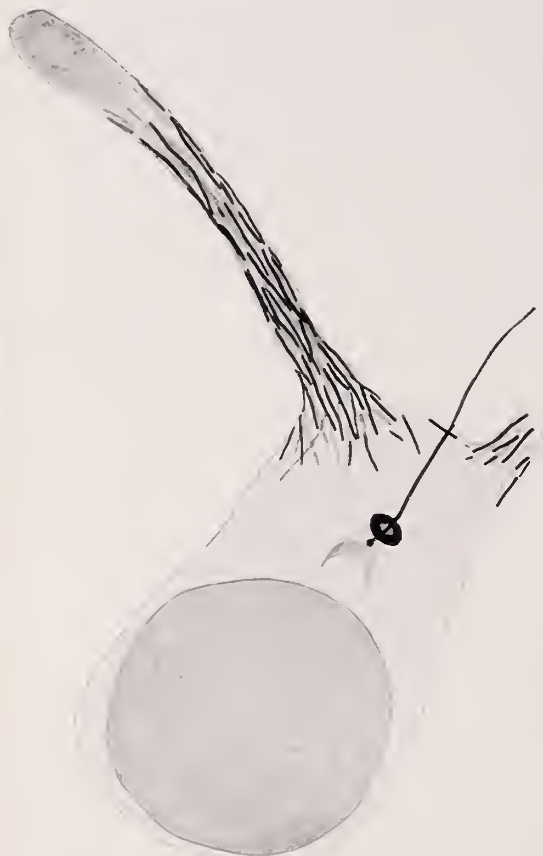


Fig. 44

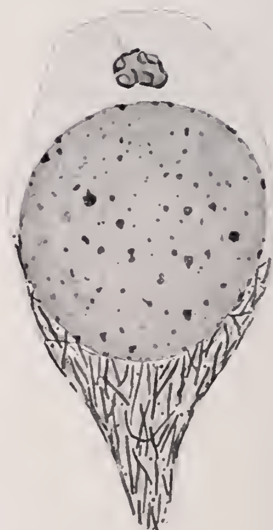


Fig. 43

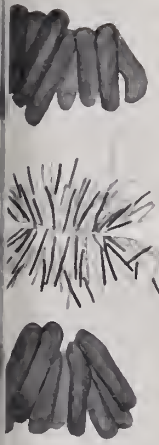


Fig. 38

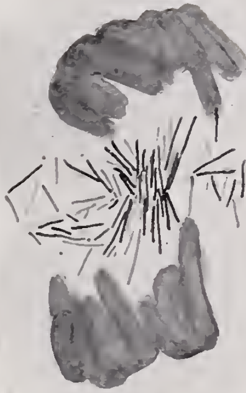


Fig. 39



Fig. 40

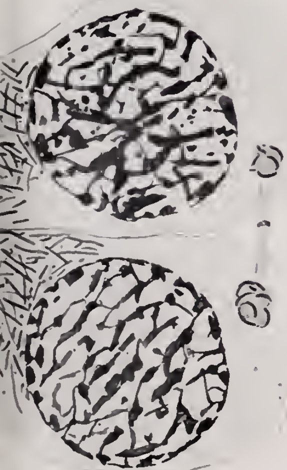


Fig. 42



Fig. 41

ann in Leipzig und Berlin.

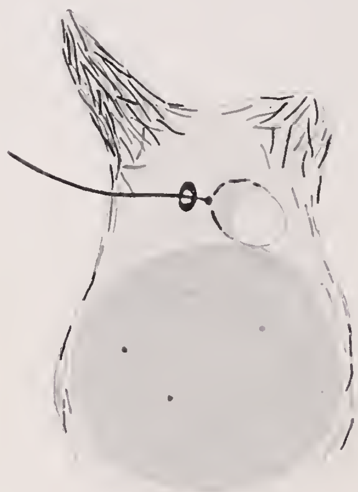
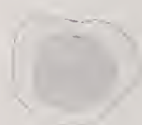


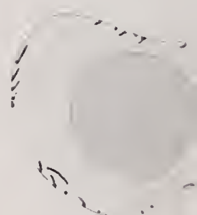
Fig. 45



Fig. 47a



47 b



47 c



Fig. 46

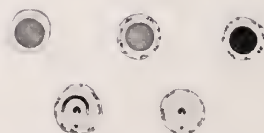


Fig. 50 a—e



Fig. 48a



Fig. 48b



Fig. 49a



49b



49c

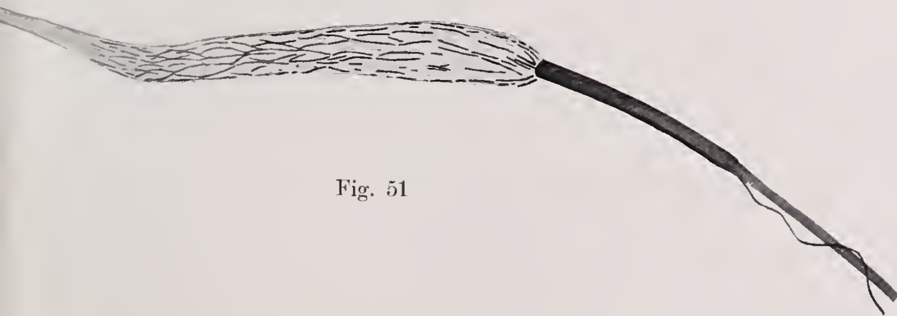


Fig. 51

A critical study of the cytology of Crepis virens.

By

L. Digby.

With plates VIII to X.

The view that the permanence of chromosomes, from one cell generation to another, may be established by the presence of chromatic bodies or 'prochromosomes' in resting interkinetal nuclei, has evoked much interest, discussion, and criticism, during the last few years. A study of the literature dealing with the subject reveals considerable lack of unanimity in the conclusions reached by different writers. It is therefore proposed, in this introduction, to sketch briefly the development of the arguments, and to outline the different views held by cytologists. Further detail will be discussed at the end of the paper following the description of the mitoses of *Crepis virens*.

Auerbach (2) working on animal cells found that by using a double stain, he could distinguish the nucleolus from certain other small bodies present in the resting nucleus which he termed 'kyanophile Nukleolen'. These are the chromatic aggregations or 'prochromosomes' of later investigators.

Rosen (43) recognised the 'kyanophile nucleoli' in vegetative nuclei of plants, and called them 'pseudo-nucleoli' as opposed to the true, or 'eu-nucleoli'.

Zacharias (63) in *Cucurbita Pepo* ascertained that the 'pseudo-nucleoli' were chromatic, "nucleinhaltiger Körper" (p. 221).

Some years later Rosenberg (44) identified these bodies in *Capsella Bursa-pastoris*, in *Zostera marina* and in *Calendula* sp. and described them as being chromatic in staining reaction, and according fairly closely in number with the chromosomes characteristic of the particular plant concerned.

Laibach (26) subsequently confirmed Rosenberg's observations regarding the resting nuclei of *Capsella Bursa-pastoris*, but he does not consider that the chromatic aggregations actually represent chromosomes, but that they constitute chromosome centres — "es kann sich vielmehr in den Körnern bloß um Zentren handeln, um die zwar der größte Teil der Substanz der Chromosomen angesammelt ist, daß aber nicht die ganze Substanz der Chromosomen in ihnen gespeichert ist..." (p. 198).

In 1904 Strasburger (52) showed, in the presynaptic stages of *Thalictrum purpurascens* and in *Galtonia candicans*, that the chromatin forms 'Körnchen' which collect at definite centres 'Gamozentren', corresponding to the number of the future heterotype chromosomes. He called the 'Chromatinkörner' 'Gamosomes'. The 'Gamosomes' pair to form a 'Zygosom', and each Zygosom gives rise to a bivalent chromosome.

A subsequent paper by Strasburger (53) which was published simultaneously with those by Overton (40), Miyake (33) and Allen (1) brought the question of the permanence of chromosomes into still greater prominence. In this paper Strasburger states that he could not definitely count the "dichteren Partien im Gerüstwerk" (p. 7) of the resting somatic nuclei either in *Galtonia candicans* or in *Funkia sieboldiana* as the "Stellen" are too indefinite in outline and too variable in size (p. 13). He endorsed his previous observations with regard to the pairing of the 'gamosomes' to form the 'zygosomes' in the presynaptic phases. Miyake (33) likewise described 'zygosomes' in the heterotype prophases of *Galtonia candicans*, whilst in later investigations by Grégoire (20) and the author (9) no definite zygosomes could be recognised.

It was Overton (40) who first introduced the term 'prochromosome' into literature. He believes that in well nourished nuclei "mag ein Überfluß an Chromatin vorhanden sein, der um die Zentren gesammelt blieb, ohne sich auf das Netzwerk der Chromosomen zu verteilen. Um diese Zentren sammelt sich auch das anderweitige Chromatin, wenn die Zelle sich zur Teilung anschickt. Diese Chromatinansammlungen scheinen mir ein fast sicherer Beweis für die Fortdauer eines Chromosomenteils, somit auch für die Individualität der Chromosomen zu sein" (p. 124). In *Thalictrum purpurascens*, *Calycanthus floridus*, *Campanula grandis*, and *Helleborus foetidus* he found 'prochromosomes' in the resting somatic nuclei, and these reappear in the premeiotic resting nuclei, and pair as they pass into synapsis. In a later paper (41) he substantiated these views with certain modifications.

Allen (1) described chromatic aggregations in the presynaptic phases of *Lilium canadense*, but ascertained that they are more numerous than the chromosomes. A similar conclusion was reached by Miyake (33). Grégoire (20) examined *Lilium martagon* and his results agree with those of Allen; Grégoire does not consider the chromatic aggregations to be true 'gamosomes'.

Miyake (33) observed that in the heterotype prophases of *Galtonia candicans*, *Allium Victorialis*, *Tradescantia virginica* and various species of Iris that the number of the paired chromatic bodies, or 'zygosomes' approximated to that of the reduced number of chromosomes. On the other hand in Lilium the number of bodies appeared to be greater, whilst in *Funkia sieboldiana* it appeared to be less than that of the specific number of chromosomes. Sykes (56) also examined the early heterotype prophases of *Funkia sieboldiana*, and described 'knots' composed of dark granules embedded in a colourless substratum. She was unable to count the knots accurately, but found that their number far exceeded that of the somatic chromosomes.

Grégoire (20) studied the heterotype prophases of *Allium fistulosum*, and his results do not corroborate those of Miyake. Grégoire recognised two types of presynaptic phases, in the one type chromatic aggregations were far more developed than in the other. He does not consider the 'noeuds' to be 'gamosomes' as the chromatin is not entirely relegated to them, but is partially distributed as granules in the reticulum.

Tischler (60) described the chromatic contents of the resting premeiotic nuclei in Bryonia as "eine Ansammlung von Körnchen an bestimmten Punkten, die Ähnlichkeit mit den Overton'schen Prochromosomen aufweisen. Sie sind aber, so weit ich sah, wechselnd an Zahl und Größe, und ich vermag nicht anzugeben, ob schließlich jedes Mal genau alles Chromatin in diesen Punkten aufgeht" (p. 85).

Mottier (35) could not determine the exact number of the chromatic masses in *Podophyllum peltatum* and moreover found that they varied both in size and in degree.

Rosenberg has extended the investigation of resting nuclei over a wide range of plants, and has contributed his results in a series of interesting papers (44, 45, 46, 47 and 48). He has shown that the resting somatic nuclei of many plants possess chromatic bodies which correspond approximately in number to that of the chromosomes. In the presynaptic prophases these bodies pair, in preparation for the formation of the bivalent chromosome of the heterotype division. He has adopted the name 'prochromosome' for these bodies, though he is of opinion

that they would have been more correctly designated as chromosome 'centres' (47).

Ostenfeld and he have also shown that in *Hieracium auricula* and in *H. venosum* (39) the number of the prochromosomes approximates to that of the chromosomes. In *Crepis virens* (46) Rosenberg was able to check the numerical identity of chromosomes and prochromosomes, and states that "die Anzahl der Prochromosomen beträgt in wirklich ruhenden Kernen 6, in den Pollenzellkernen 3" (p. 75).

This is not in accordance with Beer's observations. In a recent paper (3) on spore development in the Compositae, in which *Crepis virens* is included, he states that, "during the period just preceding synapsis the nuclei of those Compositae which have been examined were found to contain a more or less fine reticulum. No definite aggregations of chromatin which could be regarded as prochromosomes were in any case found upon this reticulum" (p. 722).

According to Rosenberg (47) the number of the prochromosomes in the vegetative resting nuclei of *Nuphar luteum* and of *Pinguicula vulgaris* is frequently less than that of the chromosomes, and he attributes this fact to an amalgamation of several prochromosomes. In the presynaptic stages of *Drosera longifolia*, *D. rotundifolia* and the hybrid *D. obovata*, the prochromosomes and the chromosomes coincide in their respective numbers.

Lagerberg (25) described homogeneous deeply staining bodies in the resting embryo sac mother-cell nucleus of *Adoxa moschatellina* corresponding to the gamosomes of Strasburger, but he was not able to correlate their number with that of the chromosomes.

Yamanouchi (61) has ascertained that 'prochromosomes' are present in resting nuclei throughout the life history of *Polysiphonia violacea*, in about the same numbers as the chromosomes. He describes the resting nucleus of the germinating tetraspore as possessing a delicate reticulum dotted with chromatic granules. Prior to mitosis the network becomes coarser, and the granules collect to form chains of beads of varying lengths. These are 'prochromosomes'. They gradually become more pronounced, and their bead-like structure is transformed into the more homogeneous rod shaped chromosomes.

Moore and Embleton (34) have found that chromatic rods are present in the resting nuclei of Triton and that their number generally corresponds to that of the chromosomes. These rods pair to form the gemini in the heterotype prophases. "The chief interest of these bodies lies in the fact that they obviously represent the chromosomes of division

during rest; and we may say without reserve that their presence at all stages of rest between the successive premeiotic divisions seems to conclusively prove the permanence of the chromosomes from one cell generation to another" (p. 558).

Malte (30) has shown that the entire chromatic substance of the resting nuclei in the Euphorbiaceae is concentrated into isolated "Chromatinkörner". In the resting vegetative nuclei of *Mercurialis annua* the Körner not only agree in number, but also in size and in shape with the chromosomes. This fact convinces him "daß sie in der Tat Chromosomen darstellen, die im Ruhezustand des Zellkerns ihre Individualität beibehalten" (p. 87).

Nichols (38) working on the development of the pollen of Sarracenia could neither establish any constancy in the number of points round which the chromatin collected, nor that they were coincident with the number of the chromosomes.

Lewis (27) describes the chromatic contents of the resting nuclei of Pinus and Thuja as somewhat large granular lumps, connected by delicate anastomosing linin strands. The number of the lumps is greatly in excess of that of the somatic number of chromosomes.

Schaffner (49) has shown in the young microsporocyte nuclei of *Agave virginica* that chromatic masses appear which approximate to the reduced number of chromosomes. As the prophase advances they become increasingly conspicuous. Schaffner believes that these masses are the 'prochromosomes' of Overton, and that they represent pairs of individual chromosomes which are orientating themselves preparatory to spireme formation.

Lundegardh (29) examined *Calendula officinalis*, *Achillea millefolium* and *Trollius europaeus*. He found that 'gamosomes' are definitely paired in Calendula and in Achillea, whereas in Trollius some of the chromatic aggregations are paired and some are single. During prophase these collect into 'Chromatinklumpen' whose number is considerably in excess of that of the somatic chromosomes. Lundegardh suggests that in the case of Trollius these should be called 'Prochromosomenteile' instead of 'prochromosomes'.

Gates (16) has described chromatin bodies in the nuclei of the meristematic cells of *Oenothera rubrinervis* which lie appressed against the nuclear membrane. In the presynaptic phases similar deeply staining bodies accumulate near the periphery of the nucleus and are swept by the reticulum into synapsis. These bodies exhibit no constancy in their number, size, or shape.

Davis (5, 6 and 7) has devoted considerable attention to the subject of chromatic bodies in a series of papers on the Oenotheras. These bodies are present in the somatic and premeiotic resting nuclei of *O. grandiflora* (5) and *O. biennis* (6). They sometimes number more, and sometimes less, than the chromosomes. Subsequently in *O. Lamarckiana* (7), he was able to trace the identity of the chromosomes of the telophase of the last archesporial divisions with the deeply staining bodies of the premeiotic resting nuclei. "These are the chromatic bodies described by the author for *biennis* and *grandiflora*, and there can be no doubt that they are derived from the chromosomes of the preceding mitosis; they apparently correspond to the prochromosomes of Overton, Rosenberg, and others" (p. 944). They are however distributed irregularly throughout the nucleus, and exhibit no evidence of a paired arrangement, but their position with regard to one another suggests rather that of an end-to-end relationship on the linin strands.

Tahara (58) found no definite chromatic aggregations in the young pollen mother-nuclei of Morus, but "kurz vor dem Eintreten zur Synapsis kommen die jetzt immer mehr wachsenden Prochromosomen welche sich schon paarweise anordnen, zum Vorschein" (p. 283). He was not able to obtain definite counts.

Nakao (37) has described a similar case to that of Morus in the cereals *Hordeum distichon*, *Triticum vulgare* and *Secale cereale*. The resting vegetative and premeiotic nuclei show no definite structure, but gradually chromatic bodies appear, whose number increases until it attains to approximately that of the chromosomes. These are the so-called prochromosomes. As the reticulum passes into synapsis, the chromatic bodies "are finely divided and more or less evenly distributed in the linin ground, forming nuclear threads" (p. 176). In some of the Primulas (10) premeiotic resting nuclei are likewise somewhat devoid of chromatic contents, but. with the approach of prophase, chromatic bodies gradually make their appearance. These originate as droplets from the nucleus, which detach themselves and gradually become chromatic.

Frisendahl (15) has described small 'Körnchenpaare' in the resting nuclei of *Myricaria germanica* and has shown that two of these pairs represent a chromosome. He has traced their homology with the chromosomes of the telophase of the preceding mitosis, in which each chromosome not only splits longitudinally. but also breaks apart transversely, either once, or occasionally more often. "Ein Chromosom wird also jetzt durch zwei Paare von Chromatinkörnern. die durch parallele Linienfäden verbunden sind, repräsentiert" (p. 6). The pairs of 'Chromatin-

körner', in haploid nuclei, number approximately twice as many as the haploid number of chromosomes, and any deviation that may occur is considered to be due to a variation in the number of transverse divisions sustained by the chromosomes of the telophase of the preceding division.

This short résumé of published observations with regard to the presence and significance of chromatic bodies in specified resting nuclei testifies to the conflict of opinion on this subject.

Of all the forms enumerated, *Crepis virens* seems to lend itself most favourably for investigation, inasmuch as the extremely low number of its chromosomes necessarily simplifies examination. *Crepis virens* was therefore selected for critical study with a view of possibly obtaining additional data, not only with regard to the subject of 'prochromosomes' but also concerning the interpretation of the manner of pairing of the univalent strands in the bivalent combination of the heterotype chromosome. The phases of the resting nuclei were comparatively simple to follow, but the extremely viscous character of the chromatic contents of active nuclei greatly impeded an elucidation of the involved phenomena connected with the evolution of the heterotype chromosome.

Methods.

Flower heads of *Crepis virens* were fixed in solutions of strong Flemming, Hermann, and Merkel's fixatives and in Alcohol and Acetic. Merkel's fluid proved a very fine fixative for this material. The buds were usually cleared in cedar wood oil, and were kept in melted paraffin about four hours. Sections were principally cut at 6 μ. Various stains were used including Heidenhain, Flemming's Triple, Breinl, Acid Fuchsin and Malachite Green, Anilin Blue and Eosin, etc.

Archesporial divisions.

It is proposed to commence the description of a somatic mitosis in the archesporial nucleus at the anaphase, for the task of tracing the transition between the telophase of the preceding division, and the prophase of the subsequent division is facilitated, when the starting point is a definite and uncontroversial stage. The selection of archesporial nuclei for the study of telophases and early prophases has been confined exclusively to those young anthers which have as yet developed but one or two parietal layers. The anther is ultimately protected by four rows of cells; the outer or epidermal layer and three parietal layers of which the innermost becomes the tapetum. This precaution ensures that one

is dealing with telophases and interkinetal stages of progressive archesporial divisions, and not with telophases of the last archesporial mitosis leading to the premeiotic rest which will be described later on in this paper.

Crepis virens has been shown by Rosenberg (46) to possess only six somatic chromosomes, the lowest number hitherto recorded in plants. This character considerably simplifies the investigation of its nuclear divisions.

Telophase.

The chromosomes, at anaphase, are grouped at either pole of the fast disappearing spindle (Pl. VIII fig. 1); they proceed to draw closely together into a compact mass. The phases which immediately follow are rendered somewhat obscure owing to the contracted form of the nucleus, and to its diffuse staining reaction, which obscures detail.

As the nuclear wall forms, the chromosomes separate from one another, and become transformed into a more or less continuous beaded spireme (fig. 2). The nucleoli are surrounded by a clear space, which is traversed by fine radiating threads, and these connect the nucleoli with the more or less peripherally arranged spireme. The chromatic granules of the spireme continue to fragment until the nucleus eventually acquires a finely chromatic granular character, which is difficult to reproduce accurately in a drawing (fig. 3). Beer (3, Pl. 67 fig. 73) has figured such a telophase in *Crepis virens* and writes that "the material of the chromosomes becomes gradually dispersed through the nucleus until it again reaches the state of a more or less even reticulum, or assumes the appearance of a cloudy flocculent precipitate" (p. 721).

The spindle fibres rapidly give place to a reticulum, and the familiar large chromatic 'bodies' are to be seen scattered in the cytoplasm (fig. 4). Their origin has not been definitely ascertained, but it is probable that they are fragments of nucleolus and other substances extruded during mitosis as suggested by Strasburger (51). So characteristic are they of telophase views that their presence affords a useful criterion for determining the stage of nuclear activity, for they gradually disappear during the subsequent prophase.

It will be realised that the almost complete dissolution of the chromosomes into a granular precipitate, renders it impossible to trace the relationship between the chromosomes of the telophase and the chromatic aggregations of the interkinetal resting stage. In this respect, therefore, *Crepis virens* does not lend itself to so critical an investigation as some plants, such as the Oenotheras in which Davis (7) was able to trace the

homology between the chromosomes of the telophase of the last archesporial division, and the chromatic bodies of the succeeding heterotype prophase, and states that he has no doubt but that these chromatic bodies are derived from the preceding mitosis (p. 944). On the other hand Nakao (37) found that in certain cereals, the nucleus, in the phase preceding the so-called resting stage, has no definite structure, but stains somewhat more deeply than the surrounding cytoplasm, and posseses one large nucleolus (37, Pl. X, fig. 1); it was only subsequently that the chromatic bodies made their appearance. A somewhat similar condition prevails in some of the Primulas (10).

Resting stage.

When the cell wall has been laid down between the two daughter nuclei, and the nuclei have increased in size and become more or less spherical, their fine granular character becomes transformed into one more typical of rest. The chromatin tends to concentrate at first into small granules, and these gradually collect together in groups to form more definite chromatic aggregations (fig. 4 and 5). The rounded chromatic bodies which are thus formed take a deep stain, and are sharply defined from the almost colourless and finely granular reticulum in which they are suspended.

Care has been taken, throughout the study of those phases concerned with chromatic bodies, to restrict the examination exclusively to whole nuclei, that is to say to nuclei untouched by the razor. Sections 6 μ in thickness give a large proportion of such nuclei. Perhaps it will not be inopportune to emphasize the extreme importance, when counting 'prochromosomes', of ascertaining that the nuclei in question are really entire. In published records this point is constantly ignored.

It is probably impossible to find complete resting nuclei in the rapidly dividing archesporial tissue. In typical resting nuclei, as exemplified by those of the tapetum (Pl. X, figs. 118, 119, and 120) of an older anther, the linin reticulum is colourless, and most of the chromatin seems to be confined to the few chromatic bodies and to the nucleolus. On the other hand, in the nuclei of the archesporium which exhibit the nearest approach to rest (Pl. VIII, figs. 5 and 6), the linin, though colourless, is definitely recognisable, and the chromatin may not be exclusively concentrated in the chromatic bodies but may also be present in the form of numerous small beads. Laibach (26) has similarly shown in some of the Cruciferae that only a portion of the chromatin may be collected in the "Körnchen", the remainder being distributed throughout the reticulum giving it a

sharper outline. The chromatic bodies, within the nucleus, constantly exhibit a paired arrangement (figs. 4, 5, 6, 7, 8, and 9), and the same phenomenon may also be observed in the extra nuclear bodies scattered in the cytoplasm (figs. 4, 5, 6, and 7). It is believed that this pairing represents an early fission for the next mitosis. The origin of the paired arrangement is difficult to determine owing to the fact that the chromatic bodies are evolved by gradual chromatic concentration. It is probable that the pairing may sometimes be due to an early association of separately condensed daughter segments, but as a rule it appears to be the result of fission of a segment which has condensed as a whole. In the upper nucleus of fig. 4, the chromatic granules are evidently associating, whilst in the lower nucleus, and in fig. 5, fission seems to be taking place.

The chromatic bodies have been counted in the, relatively speaking, 'resting' nuclei that have been found in the archesporial tissue. The number of these bodies is small, probably it does not exceed six, the somatic number of the chromosomes, but the number is variable and inconstant. It is not advisable to attach too much importance to the variability in numbers of the chromatic bodies within the archesporial nuclei, for, as these nuclei are not in complete 'rest', they do not lend themselves to critical examination. Rosenberg (45) has expressly stated that 'prochromosomes' are most constant in number in the resting nuclei of mature tissues (45, p. 402). This condition of 'rest' can hardly be applied to the young and quickly dividing archesporial cells. Resting nuclei of the tapetum have therefore also been studied, and the results of those observations will be given at the end of the description of the archesporial mitoses. Moreover, though the typical bodies stand out distinctly from the other nuclear contents, yet smaller chromatic aggregations and particles present in the nucleus, afford controversial points as to their nature. Should they be regarded as chromatic bodies or as portions of chromatic bodies, and hence be included in the counts? Or are they merely nucleolar fragments, or independent chromatic granules? Davis (6 and 7) has emphasized this difficulty in considering the counts of chromatic aggregations in resting nuclei of some Oenotheras.

Figs. 5—9, inclusive, are drawings taken from uncut nuclei in the condition of so-called 'rest' which intervenes between successive archesporial mitoses.

The study of these nuclei strongly suggests that the chromatic bodies present in the nucleus are concentrations, or storehouses of chromatin (Laibach 26, Rosenberg 47, Lundegardh 29), whose substance will

subsequently be drawn upon for the evolution of the chromosomes. It is probable that, in some cases, the chromatic bodies may be actual portions of the chromosomes of the preceding mitosis which have remained concentrated during the late telophase; but, as a rule, the fact that the late telophase is finely granular in character, and shows no definite chromatic aggregations, points to the conclusion that the bodies, present in the resting stage, are for the most part formed 'de novo' by a progressive concentration of chromatin.

Prophase.

As the 'resting' nucleus passes into prophase the linin reticulum becomes more definite in character (fig. 10) and extends throughout the nuclear cavity (fig. 11). The chromatic bodies gradually disintegrate, and their substance is dispersed throughout the reticulum as chromatic beads, which take up a position at the intersecting points of the strands (figs. 11 and 12). Nakao (37) has noticed that the chromatic granules seem to be closely associated with the linin, whereas the 'prochromosomes' appear to be independent of it. In Crepis, as in Oenothera (5), the chromatic bodies evidently contribute their substance to the linin, becoming themselves at length unrecognisable.

The transition from 'rest' to the ensuing prophase may therefore be recognised by the gradual disappearance of the bright refractive bodies in the cytoplasm, and by the breaking up of the chromatic bodies into beads within the nucleus.

The beads, carried on the linin reticulum, are arranged and grouped in many different ways. They may form an irregular cluster (fig. 15), or two, three, or four may lie together (figs. 13 and 14), or they may be arranged serially on an isolated linin strand (fig. 16) or two such beaded strands may run closely parallel to one another (figs. 13 and 16). At this stage it is easy to acquire an exaggerated idea of the number of paired strands, for those that lie at the periphery of the nucleus constantly appear to be definitely paired (fig. 12), when in reality this may be mainly due to their position relative to the curve of the nucleus. Nevertheless, in nearly every nucleus, even in the very early prophase, closely approximated or paired strands can usually be seen, indicating the origin of the future chromosomes, for each strand will become a daughter chromosome at the approaching mitosis. As the prophase advances the linin reticulum gradually forms thicker and more definite tracts which become increasingly impregnated with chromatin. Sometimes the beads may join closely together leaving no length of linin thread

between them (figs. 17 and 18). The beads may retain their individuality or they may coalesce to form a chromatic strand. When two such beaded or more or less homogeneous chromatic strands approximate, a faintly staining medium blends the two together (figs. 18, 19 and 20).

Meanwhile the nucleus has increased in size.

The further stages of prophase are marked by a massing and concentration of the paired chromatic strands (figs. 19 and 20) to form long bands, or thick aggregations. The various groupings of the nuclear contents are united by fine connections. All degrees in the approximation and condensation of the strands for the formation of the chromosomes are to be seen (fig. 20).

This description of the evolution of the chromosomes in the somatic divisions is closely in accord with that recently published by Beer (3). He has, moreover, found that an uneven concentration of chromatin may take place resulting in the production of a spiral spireme. This phenomenon was described by Grégoire (19) in the roots of Allium etc. and he is shortly publishing an account of the same in the nuclei of *Crepis virens* (21). In these preparations no such method of concentration has been observed; but when one considers the plastic character of the nucleus, and the endless variety of phases which it exhibits throughout the progressive stages of chromosome evolution, it is not remarkable that the constructive processes may develop on various lines.

The further concentration of the paired chromatic strands results in the formation of large, thick, deeply staining chromatic segments, which as a rule show no trace of their original double character. They are many in number and nearly fill the nuclear cavity (fig. 21). Gradually these segments lengthen out, and curve (fig. 22) forming a somewhat wavy and not continuous spireme (fig. 22). Fission in parts of the spireme can now be seen (fig. 23).

At this, and the previous stages, a nucleus appears to be preparing to evolve a far larger number of somatic chromosomes than the six characteristic of this species. Conversely, in the anaphase of the heterotype (Pl. X, fig. 87) and homotype divisions, the individual chromosomes tend to break up, transversely, into one or more portions. These facts point to a loose combination of segments as forming the real basis of each mature chromosome. Rosenberg (46) has figured a homotype anaphase (46, Taf. 1, fig. 27) with apparently four chromosomes, and puts forward the significant suggestion that this 'Querteilung' may indicate that the chromosomes of *C. virens* are "eine Art Sammelchromosomen" (p. 72). This hypothesis is strengthened by the fact that within

the genus there is a somewhat wide range of chromosome numbers, recalling that of the family Ascaridae. Counts of the chromosomes of *Crepis taraxacifolia* have been made, and the numbers added to the already published list. The chromosomes of *C. biennis* are too numerous to determine accurately.

Species	Somatic Number of Chromosomes	Reduced Number of Chromosomes
C. virens	6	3. ROSENBERG (46)
C. tectorum	8	4. JUEL (24)
C. taraxacifolia	8	4. DIGBY
C. lanceolata var. *platyphyllum*	10	5. TAHARA and ISHIKAWA (59)
C. japonica	16	8. TAHARA (57).

FRASER and SNELL (14) have shown that the chromosomes, in the somatic mitoses of *Vicia faba*, are frequently constricted into segments, and suggest that this phenomenon may explain "the often recorded variation in the chromosome number, and possibly also of the Mendelian phenomenon of coupling" (p. 853).

Gradually the lengths of spireme (Pl. VIII, fig. 24) join together to form six twisted chromosomes (fig. 24). These are often orientated towards the nucleolus (fig. 25). The chromosomes contract and thicken and for a time the fission in their substance may be again lost to view (fig. 26). They then move away from the nucleolus; the nuclear cavity enlarges, and they appear to be propelled to the limit of, and sometimes beyond, the nuclear boundary, before they are drawn in upon the spindle.

Metaphase.

The polar view of an equatorial plate (fig. 27) shows clearly the different sizes of the six chromosomes. In the words of ROSENBERG (46) "von diesen 6 Chromosomen sind 2 entschieden größer, 2 kleiner und 2 nehmen eine Mittelstellung ein" (p. 65). The daughter chromosomes may have separated from one another before they go on to the spindle, or they may still be in contact.

Anaphase.

The chromosomes pass to the poles (fig. 29) and thus the cycle is completed (fig. 30).

Resting nuclei of Tapetum.

A critical study of 'resting' nuclei has been made from the tapetum, as nuclei in typical 'rest' are not to be found in the rapidly dividing archesporial tissue. Overton (40) observed that 'prochromosomes' were only present in "gut ernährten Zellkernen" (p. 124), a condition characteristic of tapetal cells, which should accordingly be a favourable tissue for 'prochromosome' investigation.

In a completely resting tapetal nucleus, the linin forms a fine colourless reticulum which is arranged peripherally. The nucleolus stains deeply, and apparently the entire chromatic contents of the nucleus are confined to the nucleolus and to the deeply staining chromatic bodies. These bodies are few in number and may probably not exceed six. The nuclei selected for drawing show severally one (Pl. X, fig. 118), two (fig. 119) and three (fig. 120) chromatic bodies. There are often small granules and faintly staining aggregations amongst them, whose nature it is difficult to determine. It is apparent, therefore, that the number of chromatic bodies in the resting nuclei of the tapetum is variable, and is constantly lower than that of the somatic chromosomes.

Rosenberg (46) has figured a resting nucleus of *Crepis virens* (Tafel 1 fig. 1) taken from the peduncle (Blütenstandachse) showing a colourless reticulum and six definite 'prochromosomes'. In this connection he writes "Im Ruhestadium des Kerns ist es auffallend, wie wenige 'Chromatinkörner' im Kern enthalten sind. Ich habe darum auch ohne Schwierigkeit die Anzahl der Prochromosomen auf 6 feststellen können" (p. 66). Nuclei with six chromatic bodies may be found, but just as often nuclei with less than six.

Similar variable results have been obtained from the study of resting pollen mother-nuclei before the onset of the heterotype prophase, and from the resting tetrad. Consequently it is not possible to bring the results of this investigation into line with any far reaching conclusions based on the assumption that the number of the bodies is constant, and is identical with that of the chromosomes.

The meiotic phase.

The foregoing description of the telophase, interkinesis, and early prophase stages of archesporial mitoses, has been taken exclusively from immature buds whose anther walls consist of but one or two parietal layers of cells.

In tracing the telophase of the last archesporial division into the 'rest' which precedes the heterotype prophase, some difficulty has been

experienced in ascertaining that a particular telophase is in fact that of a last archesporial division, and not one of a progressive series. In order therefore, to obviate error as far as possible, flower heads were selected, some of whose buds had pollen mother-nuclei in presynapsis and synapsis. Buds can be found in such an inflorescence whose anthers are so far mature that they have cut off the four outer layers of cells (i. e. epidermis + tapetum), yet whose sporogeneous nuclei are still dividing somatically. Such nuclei are completing their last archesporial division, and the telophases will pass into the resting state preceding the heterotype prophase. Buds of this character have been studied through a series of transverse sections, and the various stages are represented by Pl. VIII, fig. 31, to Pl. IX, fig. 41 inclusive.

The true sequence of the stages of the passing of the telophase into rest may be traced by following out the obliteration of the spindle fibres; the decrease in the number of the deeply staining chromatic bodies in the cytoplasm, indicative of a recent division; the enlargement of the area of the loculus, accompanied by a sharp definition of the sporogeneous tissue distinguishing it from the surrounding parietal layers; and, finally, the concentration of the chromatic contents of the nucleus into fewer and more definite aggregations.

From the telophase of the last archesporial division to the withdrawal of the nuclear contents into synapsis, only entire nuclei have been studied and drawn.

In those nuclei whose linin is arranged peripherally, the strands at the extreme upper and lower focus have been omitted, as it was found that they somewhat obscured the detail of the nuclear contents. Otherwise an attempt has been made to represent actual portraits of entire nuclei.

Telophase of the last archesporial division.

In late anaphase the chromosomes are massed together and the spindle fibres are replaced by a reticulate cytoplasm (Pl. VIII, fig. 30). The chromosomes subsequently, once more separate from one another and fragment; a limiting nuclear membrane forms; and generally two nucleoli make their appearance. Few data have been acquired regarding those stages concerned with the immediate fragmentation of the chromosomes, for the staining reaction during this period is diffuse, and obscures the course of events. By the time, however, that the cell wall is laid down between the daughter nuclei, the chromosomes have usually resolved themselves completely into rounded chromatic granules united by fine

threads, forming a reticulum (fig. 31). There is undoubtedly some latitude in the degree of dissolution sustained by the chromosomes. Probably sometimes the fragmentation is not so complete, and consequently portions of chromosomes may be left entire. No definite statement can however be made on this point, as difficulty was experienced in following those stages, and they are apparently passed through with great rapidity. On the other hand the events of the late telophase, as 'rest' approaches, can be easily traced. and a complete series of nuclei illustrating these can be found.

There is a gradual withdrawal of the nuclear contents to the periphery, and the chromatic granules tend to concentrate into more definite and larger rounded beads (fig. 33), or to collect into small aggregations or groups, whose multiple character is clearly displayed (fig. 32). The linin reticulum becomes more defined and is partly chromatic as shown by the readiness with which it absorbs a basic stain. Gradually the chromatic contents of the nucleus are increasingly concentrated into the chromatic bodies which accordingly decrease in number (figs. 34, 35 and 36). Small beads of chromatin may be found amongst them, whose substance is apparently about to be absorbed (figs. 34, 35 and 36).

The nucleolus, surrounded by a clear space, usually occupies the centre of the nucleus, whilst the bodies and the linin are arranged peripherally.

The chromatic bodies gradually become fewer (Pl. IX, figs. 37 and 38) until they can be definitely counted, and number 7 (fig. 39), 5 (fig. 40), 3 (fig. 41), etc.

By this time the nuclei may be considered to have entered upon 'rest'. The area of the loculus has meanwhile considerably enlarged.

Rest before first meiotic division.

In the 'rest' between the last archesporial division and the heterotype prophase, the chromatin of the nucleus is apparently concentrated in the nucleolus and in the very few chromatic bodies. These take a deep bright stain and stand out sharply and clearly from the pale linin reticulum. Faintly staining masses may also be present resembling portions of linin (fig. 45), and it becomes a matter of personal judgment as to whether they should be regarded as chromatic bodies. If, as in *C. virens*, where the number of the bodies is exceptionally low, the results of counts may be open to criticism, it follows how proportionately difficult, if not impossible, it must be to acquire accurate estimates where the chromatic bodies attain to large numbers.

The differences in number, form, and arrangement of chromatic bodies might be described 'ad infinitum' (figs. 42, 43, 44 and 45). The result of this investigation seems to point conclusively to the fact that the number of the chromatic bodies in premeiotic resting nuclei is inconstant. Apparently the number may vary between one and six, for in a completely resting nucleus not more than six have been seen. These facts point to the conclusion that the chromatic bodies instead of being 'prochromosomes' in the sense of Overton (40), are rather storehouses of chromatin, a suggestion formulated by Tischler (60), Laibach (26) and others. In *C. virens*, and forms which show definite chromatic bodies, designated by Rosenberg (44) as the Capsella type, the chromatin is concentrated or stored in a variable number of definite masses, instead of being more or less diffused throughout the nucleus as in the Fritillaria type.

The resting nucleus passes imperceptibly into the prophase of the heterotype division.

Prophase of first meiotic division.

The first indication of the onset of prophase is to be seen in the more definite appearance of the linin (fig. 45), and in the fission observable in the hitherto homogeneous chromatic bodies (fig. 46). At first sight it would be impossible to determine whether the paired appearance of the bodies might be due to the approximation of two individuals, or to the fission of a single individual. Rosenberg (46) considers that the paired chromatic bodies of the heterotype prophases represent the association of two homologous chromosome segments. On the other hand, the result of this study of initial stages points strongly to the conclusion that this double character is due, not to approximation, but to fission.

A refractive line appears in the substance of a chromatic body (figs. 47 and 48), and this gradually separates the two sides which may divaricate to form a V (fig. 47 and Pl. X, fig. 113). A definite linin strand is seen to proceed from both of the free ends. Gradually the two sides separate, and become once more rounded in form resulting in two closely approximated chromatic bodies (Pl. IX, fig. 49 and Pl. X, fig. 114). Occasionally they are so disposed towards one another, as to form a cross (Pl. IX, fig. 47). At this stage nuclei may be found showing clearly the fission of the bodies, the segments of the several pairs being united by fine threads (fig. 54). Sometimes there may be three or four such bodies in the act of splitting (fig. 52), or there may be fewer (fig. 50) or there may be more (fig. 54). It is again realised that their number is inconstant. As the

bodies split, their sides tend to fragment and to become beaded (fig. 51). The absolute similarity in the constituent parts of the two sides is very clearly marked (figs. 51 and 52). The split bodies are at first more or less peripherally arranged, but as the linin network, preparatory for synapsis, collects round the nucleolus, it withdraws the chromatic portions to the centre of the nucleus.

The view that the paired chromatic bodies are the result of fission of a single body entails the assumption that each whole body represents a portion of a whole somatic chromosome. Consequently, the fission which divides it into two daughter halves is homologous with the fission in the chromatic bodies of the "resting" somatic nuclei, and in the spireme of the somatic prophases. The fission visible in the heterotype prophase will ultimately divide the univalent chromosomes into their daughter halves on the homotype spindle, whereas the fission in the somatic prophase will take effect at the approaching mitosis.

It is not possible to testify by actual proof, to the true nature of the chromatic bodies, owing to the fact, that, during interkinesis, all individuality of the chromosomes is lost to view, and hence no relationship can be traced between the chromosomes of the telophase of the last archesporial division, and the chromatic aggregations of the heterotype presynaptic prophases. In Galtonia (9), on the other hand, where there is no interkinetal rest, the paired portions of the heterotype presynaptic prophases can be identified with the paired chromosome segments of the preceding archesporial telophase, and these are recognised as resulting directly from the alveolisation and fission of the chromosomes.

In the study of *Crepis virens* two facts can easily be determined which advocate the view that the paired aspect of chromatic bodies in the early heterotype prophase is due not to approximation, but to fission. 1. The two parallel sides of the chromatic bodies are identical in size, shape and character: 2. The number of the chromatic bodies increases as the nucleus proceeds towards synapsis, whereas if it were a matter of approximation the number would decrease.

Apart from the value of evidence afforded by critical observation of actual phenomena, it is also significant that similar paired bodies are to be found in resting somatic nuclei, in the resting tetrad nuclei, and in the extra nuclear cytoplasm. In the somatic resting nuclei the pairing represents a reassociation of daughter halves of somatic chromosomes which had separated during the preceding telophase. The space between them represents an early fission, the fission which will later divide the daughter chromosomes. A similar interpretation must be

placed on the paired chromatic bodies of the resting tetrad nuclei. It is evident that in the tetrad nuclei there can be no question of approximation of homologous chromosomes as only one set of chromosomes is present. No meaning can be attached to the occurrence of paired chromatic bodies in the cytoplasm owing to their extra nuclear position.

It is essential, when results are being considered, that precisely comparable stages should be taken into account. It has been shown that, in the late telophases, the chromatic nuclear contents trend towards an ever increasing concentration, and consequently to a gradual decrease in the number of the chromatic bodies, whilst, in the early prophases, division and fragmentation of the chromatic bodies once more increase their number. Viewed in the light of this interpretation, the paired arrangement of 'prochromosomes' figured by Rosenberg (46, Taf. 1, fig. 6) would be regarded merely as the relative position of two chromatic bodies, a position frequently met with in 'resting' nuclei (fig. 43), or at a slightly later stage, as the result of fission (figs. 49 and 51) of a single body.

Presynapsis.

Gradually the beaded sides of the chromatic bodies separate from one another (fig. 55), and the several beads lie more or less independently in the linin which becomes definitely reticulate and tends to contract from the nuclear periphery (fig. 56). As the linin collects round the nucleolus, carrying with it the rounded chromatic beads, some of the substance of the beads diffuses into it, giving it a coarser and more pronounced appearance (fig. 57). Contraction proceeds and the linin may withdraw to one side of the nucleus (fig. 58). In cross section it appears to occupy the centre of the nucleus, and is attached to the nuclear limiting membrane by fine strands (figs. 58, 59 and 60). As the association of the linin with the chromatic beads becomes more intimate, it takes an increasingly deeper stain. The beads begin to loose their identity, and tend to break up into smaller granules and these are closely packed together in the linin substratum, forming a close and granular synaptic knot (fig. 61).

It is a remarkable circumstance that synapsis may also be achieved as the result of a series of presynaptic phases very different in character from those above described. In this alternative series, the chromatin occurs in smaller aggregations and is more evenly distributed throughout the nucleus. It is evident that Beer (3) in his examination of the early heterotype prophases of *C. virens* chanced to see only the finely

chromatic presynaptic phases, and did not observe those characterised by the presence of chromatic bodies. He describes the presynaptic stages of certain Compositae including *C. virens* as "a rather coarse network with chromatin aggregates which are irregular in size and form, and of no constant number" (p. 707). And again, "so far as the presynaptic pollen mother-cells of the Compositae are concerned, I find definite prochromosomes or gamosomes to be nonexistent" (p. 708). The occurrence of various types of prophases proceeding on different lines towards the same end has already been described by the Schreiners (50), by Grégoire (20) and by Mottier (35). It is proposed to defer the account of these fine presynaptic stages to the end of the description of the meiotic phase.

Synapsis.

Close synapsis has a finely granular appearance. The nucleolus can be seen lying within, but apparently independent of, the synaptic knot (fig. 61).

The density of the synaptic knot obscures the course of events there taking place, but it is noticeable that when the synaptic knot is about to loosen (figs. 62 and 63), the chromatic beads are larger and more definite than those of early synapsis (fig. 61).

During close synapsis fine linin strands, and occasionally thick loops of spireme (fig. 62), escape from the knot. This stage is of long duration as it is not uncommon to find all the pollen mother-nuclei of a bud in close synapsis.

When the knot begins to unravel it may give off rounded globules of a faintly staining substance (fig. 63). These droplets pass out of the nucleus into the surrounding cytoplasm where they remain throughout the second contraction phases as very bright refractive chromatic staining bodies (figs. 64, 69, 70, 74 and 76). In *Galtonia candicans* (8) similar globules of eu-nucleolar substance escape from the synaptic knot, and these subsequently become chromatic. Lubimenko and Maige (28) have described the extrusion of nucleolar fragments into the cytoplasm. In *Crepis virens* this budding may be continued throughout the unravelling of the synaptic knot, and may still be proceeding during second contraction (figs. 74 and 75). Sometimes the whole synaptic knot breaks up into chromatic portions, but such extreme fragmentation undoubtedly foreshadows nuclear disintegration. From synapsis onwards, individual loculi, or even all the loculi of an anther, may show complete disorganisation of their pollen mother-cells. Rosenberg (46) has stated that sometimes the action of the fixing fluid has been so violent "daß der Kern hier und

da durch die Zellwand hindurch und in die benachbarte Zelle hineingepreßt wird" (p. 68).

There is a typical extrusion of bodies in *Crepis taraxacifolia*, and these pass into the adjacent cells as in *Galtonia candicans* (8), a phenomenon which in *Galtonia* cannot be ascribed to faulty fixation.

To eliminate misunderstanding, it seems advisable to define the precise meaning of the terms 'univalent and bivalent', which will constantly be used in the succeeding description of the meiotic phase. A 'univalent' segment of spireme signifies that which will eventually constitute a 'univalent' chromosome; a 'univalent' chromosome being characteristic both of somatic and of homotype divisions. A 'bivalent' segment of spireme is of a duplex character, and represents the association of two 'univalent' lengths of spireme, in preparation for the formation of the 'bivalent' chromosome; the bivalent chromosome, characteristic of the heterotype division alone, represents a combination of two 'univalent' chromosomes. Further, the significance of the two forms of fission must be borne in mind. Fission in the substance of the 'univalent' spireme, or chromosome, divides it into two daughter halves preparatory for the next vegetative or homotype mitosis; whilst the so-called 'fission' in the substance of the bivalent spireme disjoins the two univalent segments or chromosomes, in preparation for their dissociation on the equatorial plate of the heterotype division. It is proposed to confine the term fission exclusively to the split in the substance of the univalent spireme and of the univalent chromosome, and to use other descriptive words for the disjunction of the univalent segments of the bivalent combination.

Passing out of synapsis.

Whereas during the presynaptic phases the split univalent segments concentrate for the evolution of the future univalent chromosomes, so during synapsis, as revealed by the course of subsequent events, there is a further sorting out, and also an approximation in pairs, of these univalent segments preparatory for the association of two univalent chromosomes for the heterotype combination. (In Primula this association takes place during the hollow spireme stage.) The strands and loops, as they come out of synapsis, are therefore of the bivalent order, though they show all stages in the separation of their component univalent segments. This, combined with their viscous character, gives them a varied appearance. The clear line in the substance of the bivalent spireme indicates the separation of the univalent spiremes, and must not be confused with true fission which for the time is invisible, the individual

univalent segments being temporarily concentrated. True fission reappears in the univalent segments as they come out of second contraction (fig. 78), but it is not easily seen until after the heterotype metaphase, when it occurs as the cleavage so often visible in the daughter chromosomes as they retreat to the two poles (Pl. X, fig. 84). The bivalent spireme, as it comes out of synapsis, displays all degrees in the separation of its univalent segments. These may be either 1. approximated so closely side by side showing no apparent space between the two; or 2. partially separated; or 3. completely separated throughout their length but united at their ends to form a loop. The junction of two univalent lengths of spireme is always emphasized by a chromatic swelling.

1. Some of the thick bivalent loops and strands may be homogeneous, and hence display no sign of their duplex nature, though in character, and in thickness, they resemble others in which traces of separation into their univalent segments can be seen. These homogeneous bivalent portions of spireme point to an intimate s i d e t o s i d e association of univalent lengths of spireme arranged during synapsis (Pl. IX, figs. 64 and 65).

2. All degrees of partial separation of univalent strands can be found. The line of future separation may be merely indicated as a clear space in the substance of the bivalent spireme (figs. 66 and 67); or the two univalent segments may have recently become dissociated, their edges being still somewhat ragged and beaded (fig. 67); or the univalent segments may be entirely parted for an appreciable length, and be rounded in outline (figs. 65 and 68).

3. Paired univalent segments of spireme, although separate throughout their lengths, may be united at their ends to form a loop (figs. 69 and 73). It is evident that such univalent lengths of spireme have separated and are not in the act of approximating for the two lengths are identical, and may constantly be joined by fine thread-like cross connections (figs. 69 and 73). These univalent segments demonstrate an e n d t o e n d association.

Gradually the loops and strands extend into the nuclear cavity, and a few may reach the periphery, but as a rule they remain congregated more or less in the centre of the nucleus (fig. 70). In *C. virens* there is no 'hollow spireme' stage, for the spireme, as it comes out of synapsis, passes almost directly into second contraction. In only one series of sections was the spireme found to be evenly distributed throughout the nucleus.

It is evident, that the phases, from synapsis onwards to diakinesis, are quickly passed through, as nuclei in very different stages of pro-

gression are to be found in the same loculus. This fact, together with the exclusion of the hollow spireme stage, somewhat facilitates the study of the history of the univalent spireme, from the time that it can be distinguished as it passes out of synapsis, to its final connection as a univalent segment of the heterotype chromosome.

Second contraction.

As the bivalent loops of spireme go into second contraction, their component univalent segments may still show indications of separation. The line of separation may be clearly visible line in the substance of the bivalent spireme (fig. 71), or the two univalent segments may diverge widely (figs. 70, 72 and 73). Sometimes the independent univalent segments are twisted round one another (fig. 71).

Gradually most of the bivalent loops contract into a mass, which is often so dense that little detail is apparent (fig. 74); those loops that protrude are thick and homogeneous and seldom reveal their duplex character (fig. 74), owing to the close reassociation of the univalent segments.

Lightly staining globules may be exuded from the contracted chromatic mass (fig. 74).

Coming out of second contraction.

Rosenberg (46) has noted (p. 69) that the number of loops that emerge from second contraction is in excess of that of the chromosomes.

There is much variety in the character and appearance of these loops as they extricate themselves from the chromatic mass of the second contraction. In some, the associated pairs of univalent segments appear as fine threads united at intervals by large beads of chromatin (fig. 76); whilst in others the univalent segments are independent lengths of concentrated spireme (figs. 75, 77 and 78). Again in others, the univalent spiremes are widely separated, and are only united at their ends to form a loop (fig. 75), and even this point of juncture may break down (fig. 78.) Sometimes two univalent segments may run closely parallel and be joined together by fine cross connections (fig. 75).

At this stage it is occasionally possible to recognise fission in the substance of a univalent segment (fig. 78), the fission that will eventually cleave the univalent chromosome into its daughter halves on the homotype spindle.

It will be gathered from this description that the appearance and disposition of associated univalent segments as they enter, and as they come out of, second contraction is often very similar.

The decision arrived at from the study of the phases of the heterotype division conforms to the view first expressed by Farmer and Moore (11), that the association of univalent segments, initiated in previous stages, is completed during second contraction.

The phases concerned with second contraction must be quickly passed through, as nuclei in very different progressive stages may be found in the same loculus, and even in the same section of a loculus.

When the nuclear contents have come out of second contraction they are extremely viscous in character, and the separated univalent segments may be drawn out as fine strands (fig. 79). The various parallel lengths are connected by concentrated masses (fig. 80). It is generally impossible, at this stage, to individualize the future three bivalent chromo-, somes, for, like the somatic chromosomes, they originate in portions and it is only immediately prior to the appearance of the spindle fibres that these fuse together to form the mature heterotype chromosomes (figs. 81 and 82). The chromosomes are in fact evolved out of what appears to be a tangle of viscous nuclear contents.

The typical heterotype chromosomes are of three distinct sizes (Pl. X, fig. 83) as described by Rosenberg (46). When they have completed their growth the almost colourless nucleolus collapses, and its substance is distributed in the form of globules.

Metaphase of the heterotype division.

The difference in size of the chromosomes, when on the spindle (fig. 83), is very apparent. The large one is generally C shaped, the middle sized one more or less V shaped, whilst the small one resembles a dyad.

Anaphase of the heterotype division.

The small chromosome is the first to separate, and its rounded univalent segments may have already arrived at the poles, whilst those of the larger chromosomes are still in contact (fig. 84). Fission of the two large univalent chromosomes almost cleaves their daughter halves, causing them to be V or U shaped, their apices being directed towards the spindle poles (figs. 84 and 85). In the polar view of a late anaphase the chromosomes sometimes appear to be more than three in number (fig. 87). This is due to a transverse division of the chromosome segments. Rosenberg

(46) has described (p. 72) and figured (Pl. 1, fig. 27) a "Querteilung der Chromosomen" in the anaphase of the homotype division.

Many brightly staining refractive bodies are scattered in the cytoplasm around the spindle and the daughter nuclei (figs. 86 and 87).

Telophase of the heterotype division.

The chromosomes, having massed together in the manner characteristic of a late anaphase (fig. 86), begin once more to separate from one another, and to extend towards the periphery of the nucleus, the clear nuclear cavity being sharply distinguished from the denser cytoplasm. They become beaded and show beautiful fission in their substance (figs. 88 and 89). Sometimes the fission divides two beaded sides (figs. 88 and 89), or it may divide two fine strands joined at intervals by large beads of chromatin (fig. 89), precisely as is sometimes seen in the separation of the univalent strands after second contraction (Pl. IX, fig. 76).

By this time one nucleolus has generally made its appearance in either daughter nucleus.

Fine connecting threads join the portions of dissolving chromosomes to one another (Pl. X, fig. 89). There is only a partial dispersion of these portions, for they immediately proceed to reconcentrate in preparation for the homotype division (fig. 90). There is no interkinetal rest.

Second meiotic division.

The passing of the heterotype telophase into the prophase of the homotype division can be recognised by the gradual disappearance of the spindle fibres of the heterotype mitosis, and by the elongation of the axes of the daughter nuclei, at right angles to the plane of the previous division (fig. 90).

Prophase.

The homotype prophase shows the concentration of the split fragments of the chromosomes derived from the heterotype telophase. Constantly a space remains between the concentrating portions (fig. 90), and represents the future line of fission between the daughter chromosomes on the homotype spindle.

The chromosomes are evolved in portions as in the heterotype (see page 120), and archesporial (see p. 108) prophases. Sometimes it is not possible to recognise the limits of the three chromosomes even though the spindle fibres may be indicated (fig. 91). Fission, separating the condensing daughter chromosomes, is not apparent during the later stages of concentration (fig. 91).

Metaphase.

A polar view of a homotype equatorial plate (fig. 92) shows the three concentrated chromosomes to be more or less V shaped, due to the partial cleavage of the daughter chromosomes. As they pass to the poles the large chromosomes are constantly hooked (fig. 93) (cf. Rosenberg 46, Taf. 1, figs. 25 and 26). It is possible that this appearance may not always be due to a bending over of the chromosome, but that it may represent the opening out of the fission which is visible in the subsequent retrogressive telophase stages (fig. 95).

Anaphase.

Arrived at the poles, the chromosomes mass together in the usual characteristic way (fig. 94). As they separate out once more, they tend to break apart transversely. Consequently, in late anaphase, there frequently appears to be a larger number of chromosomes present than the three typical of the reduction divisions. Rosenberg (46) has emphasized this fact and has figured these stages. He suggests that this evident loose adhesion of the units which go to build up a chromosome, may indicate that the chromosomes of *C. virens* are of a collective character, that is to say that they may represent associations of chromosomes. This suggestion is further corroborated by the observation that the portions of the several chromosomes remain unconnected until, as concentrated chromosomes, they take up their position on the equatorial plate. It is only therefore at metaphase. and as they proceed to the poles, that they are distinct entities.

Telophase.

Great variety is exhibited by the nuclei as they pass through the retrogressive phases into rest. Some of the chromosome portions may remain more or less entire as large rounded beads (fig. 96), suggesting a previous transverse segmentation of whole chromosomes, while other portions may show fission in their substance (fig. 95), with paired threads joining the sides of one split portion to those of another (fig. 95).

Rosenberg (46, Taf. 1, fig. 29) has figured beautiful examples of fission in the chromatic contents of the telophases of tetrad nuclei, and he conceives it to be the fission preparatory for the next nuclear division (46, p. 72).

As the tetrads are about to separate from one another (fig. 96) the chromatic nuclear contents are distributed in the form of rounded beads

(fig. 96), which gradually resolve themselves into smaller granules (fig. 97). As the nuclei enter rest, the beads once more concentrate into larger chromatic aggregations (figs. 98 and 99).

Resting tetrad nucleus.

The passing of the telophase of the homotype division into rest has been closely followed in order that the origin of the chromatic bodies present in the resting nucleus of the tetrad might be determined. Once more it has not been possible to trace any direct relationship between the chromatic bodies of the resting tetrad nucleus and the chromosomes of the preceding homotype telophase, for during late telophase the substance of the chromosomes is more or less distributed as small beads.

It can only be definitely ascertained, therefore, that in the retrogressive stages leading to the resting tetrad, as in the interkinetal rest between the last archesporial division and the heterotype prophase, the chromatic staining contents apparently decrease, and those that remain collect into a few deeply staining chromatic bodies, the 'prochromosomes' of Rosenberg. Rosenberg (46) has figured (Taf. 1, fig. 30) a resting tetrad nucleus with three 'prochromosomes'.

Whole nuclei have alone been taken into account for this investigation. The number of chromatic bodies in a completely resting nucleus has again been found to be inconstant. It is always low, probably it does not exceed three, but it may often be less. In both the nuclei figured (figs. 100 and 101) two definite deeply staining chromatic bodies alone are present. These bodies, as in the somatic and premeiotic resting nuclei, may show a duplex character (figs. 100 and 101) indicative of the future separation of the daughter chromosomes. Rosenberg (46) has interpreted this appearance in premeiotic resting nuclei as the association of homologous (diploid) chromosome segments, but this explanation cannot be applied to the precisely similar appearance encountered in the tetrad nuclei, in which only one (haploid) set of chromosomes is present. Fraser and Snell (14) have emphasized this point in the gametophyte of *Vicia faba*.

In a resting nucleus, apart from the chromatic bodies (figs. 99, 100 and 101) small faintly staining beads are usually present. These beads may be arranged in pairs, and paired threads may join group to group. Their appearance suggests that they are portions of linin which have lost their chromatin, the latter having become concentrated into fewer but larger masses (figs. 100 and 101).

It is not wise to attach undue significance to the fact that the number of the chromatic bodies in resting tetrad nuclei may be identical with that of the chromosomes, for the number of the chromatic bodies is inconstant, and may be often less than that of the chromosomes.

Alternative series of presynaptic stages.

The fact that the pollen mother-nuclei of *Crepis virens* show two distinct types of presynaptic phases has already been mentioned (see p. 115), but in order that the two methods may be clearly distinguished from one another only the description of that series characterised by the definite but debatable chromatic aggregations has been incorporated into the account of the meiotic phase.

Both types are so distinct in character that there is no difficulty in deciding along which course the nuclei of any one particular bud are proceeding.

The fundamental difference between the two series is based on the distribution of the chromatic contents. Whereas in the 'chromatic body series', the chromatin is concentrated into a few definite masses, in the 'finer reticulate series', it is distributed in the form of small beads. Both may be found in the same flower head but apparently not in the same bud. It is believed that the finer distribution of chromatin occurs more frequently than the coarser distribution. This would account for the fact that Beer (3) did not chance upon the definite chromatic aggregation type of prophase, but describes the presynaptic nuclei of certain Compositae including *C. virens* as having a somewhat "coarse network with chromatin aggregates which are irregular in size and form, and of no constant number" (3, p. 707).

The difference in the two types of presynaptic prophases probably originates in the late telophase, when, instead of the chromatin of the reticulum condensing to form the definite chromatic masses, it remains distributed as small beads or granules throughout the nucleus. Occasionally these beads concentrate into larger aggregations (fig. 102) but as a rule they remain individually distinct.

The linin forms a beautiful reticulum with the chromatin beads situated on its strands, and at the points of intersection (fig. 103). The threads, with their beads, are arranged in pairs (figs.103 and 104) and this pairing becomes more accentuated as the nuclear contents are increasingly aggregated preparatory for synapsis (figs. 105 and 106).

It is not possible, for reasons already given, to trace the origin of this pairing back to the telophasic fission of the preceding mitosis. It can only be assumed from comparative investigations, and from the clear

evidence afforded by Galtonia and other forms, that the parallelisms of these presynaptic prophases represent the reassociation of the two longitudinal halves of a univalent chromosome which separated during the preceding telophase. This pairing of threads is therefore to be regarded as the preparatory concentration of the daughter halves of univalent chromosomes which will separate on the homotype spindle, and consequently as homologous with the concentration of paired threads of somatic prophases.

As the nucleus approaches synapsis, the chromatic contents begin to aggregate (fig. 105). The beads arrange themselves into masses, into groups, or into squares (figs. 105, 106 and 107). The parallel arrangment of threads and beads is constantly most marked (figs. 104 and 106). Aggregation proceeds (fig. 107) and the chromatin becomes increasingly concentrated, sometimes leaving the linin as a colourless reticulum (fig. 107). Gradually the linin contracts from the nuclear periphery, and the more or less finely beaded reticulum collects round the nucleolus (fig. 108). The chromatin exhibits varying degrees of concentration; in some nuclei it may be in the form of fine beads (fig. 108), whilst in others it may be collected into relatively larger rounded portions (fig. 109). The nuclear contents draw more and more closely together (fig. 110), until they are massed at one side of the nucleus in the typical beaded synaptic knot. At first this knot may be more finely granular than that resulting from the definite chromatic aggregation series of prophases, but it would be impossible to distinguish from which method the close synaptic tangle, that immediately follows, had ensued.

Between the two distinct types of presynaptic phases. there may be an intermediate series in which definite chromatic aggregations are present in the resting nucleus (figs. 111 and 112). These chromatic bodies elongate and divide into rounded beads (figs. 113 and 114) which are larger in size than those of the fine presynaptic phases (figs. 102 and 103), but are smaller and more numerous than the typical longitudinally divided chromatic bodies of the coarser chromatic series. Gradually (figs. 115 and 116) the beads collect into synapsis (fig. 117). Such a series has been found in material fixed with acetic alcohol.

Parallel cases to that of *Crepis virens* have been described by Grégoire (20) and Mottier (36) in plants, and by the Schreiners (50) in animals, showing the occurrence of different types of somatic and heterotype prophases due to the method of distribution of the chromatic contents.

Grégoire (20) found two distinct series of presynaptic phases in the pollen mother-nuclei of *Allium fistulosum*. The one has a fine reticulum

(20, Pl. 2, fig. 37) which passes into synapsis, the other, a more developed reticulum with larger chromatic aggregations (20, Pl. 2, fig. 36). The same type of synapsis ensues from both series. Also in the presynaptic stages of *Lilium martagon* he has shown that the 'plages' of chromatin are of different sizes and shapes, and in some nuclei they may be more developed than in others.

Mottier (35), working on the same plant, describes a similar divergence in the character of the prophases, and states that this difference also embraces the synaptic phase. A finely granular synapsis (35, Pl. 28, fig. 21) results from the series of prophases whose chromatin is distributed in more or less uniformly sized granules, whilst a relatively lumpy synapsis (35, Pl. 28, fig. 22) results from the series of prophases whose chromatin is in large irregular masses. He has also found two types of prophases in the resting vegetative and pollen mother-nuclei of *Podophyllum peltatum*. In the resting pollen mother-nuclei the chromatin may be in medium sized granules (35, Pl. 27, fig. 1) or in large lumps (35, Pl. 27, fig. 2). In early presynaptic prophases, nuclei, even in the same loculus, may exhibit diverse characters. In one, the chromatin may be aggregated into irregular shreds (35, Pl. 27, fig. 3) whilst in another, it may be distributed throughout the linin as small granules (35, Pl. 27, fig. 4). Subsequently Mottier (36) has extended these observations and has experimented in fixing the embryosac mother-cells of *Lilium martagon* and *Lilium candidum*. He cut away the walls of the ovaries, in some cases leaving the cavity enclosed by a thin layer of tissue, whilst in others the cavity was laid bare. When the fixing fluid had to penetrate a tissue, six or seven layers of cells in thickness before it reached the ovule, the chromatin of the embryosac mother-cell nucleus was found to be precipitated in large angular lumps (36, Pl. 23, fig. 2) whereas when the fluid had direct access to the ovule, the chromatin of the embryosac mother-cell nucleus was precipitated in fine granules (36, Pl. 23, fig. 1). Mottier ascribes this difference to the action of the fixing fluid. If the fluid be rendered weaker owing to its passage through several layers of cells it causes a coarser precipitation of chromatin, whereas if its strength be unimpaired a relatively fine precipitation ensues.

Meves (32) has figured resting spermatogonial nuclei, fixed in Hermanns fluid, from different portions of the testis of *Salamandra maculosa*. The nuclei of the anterior lobe show their chromatin to be somewhat massed into irregular aggregations, 'Chromatinbrocken '(32, Taf. 1, fig. 4) whilst the nuclei of the extreme tip show a fine chromatic precipitation (32, Taf. 1, fig. 5).

The SCHREINERS (50) have checked the action of different fixing fluids on the resting spermatogonial nuclei of *Myxine glutinosa*. They found that, fixed in HERMANN's formula, the chromatic contents of the nucleus were distributed as "feine Chromatinkörnchen, die hie und da zu etwas größeren gesammelt sind" (p. 197), (50, Pl. 6, fig. 3*a*), whereas fixed in a chromo-sublimate solution (ZENKER) "sieht man nie eine so feine Verteilung des Chromatins. Es zeigt sich hier zu gröberen Klumpen und Fäden gesammelt" (p. 198), (50, Pl. 7, figs. 17 *a* and *b*).

The evidence afforded by the observations and experiments enumerated above, strongly suggests that the definite aggregations of chromatin which are visible in some resting nuclei are merely the expression of chromatic concentration, and do not represent 'pro-chromosomes' in the strict sense of that term. Not only has it been shown that the degree of precipitation may be modified experimentally by the action of different fixing formulae, and by the control of their penetration, but also that nuclei, though subjected to precisely the same treatment, may exhibit widely varying degrees of chromatin precipitation.

A consideration of the above mentioned facts may perhaps lead to a possible reconciliation of the divergent views expressed by those who have studied the supposed relation of prochromosomes to the genesis of the chromosomes themselves.

General considerations.

It is now proposed to discuss 1. the significance of the chromatic bodies in resting nuclei, and 2. the evolution of the heterotype chromosomes.

I. Significance of the chromatic bodies.

It is a widely held view that chromosomes have a permanent individuality which is maintained throughout successive generations of cell division. One of its chief opponents is FICK (13), who regards the chromosomes as tactical entities which appear at the time of nuclear division and act as "mobile Manöverirverbände des Chromatins" (p. 202). STRASBURGER (54 and 55) has discussed at length two facts which strongly support the theory of the permanence of chromosomes; firstly, their appearance in each successive nuclear division, not only in specific numbers, but also in characteristic shapes and sizes; and secondly, the pairing of homologous chromosomes in somatic mitoses. These are familiar facts and need no further comment. Moreover STRASBURGER (55) believes

that "sehr entschieden läßt das Fortbestehen der Chromosomen in dem Ruhezustand des Kernes auch durch die Fälle sich stützen, in welchen die einzelnen Chromosomen durch eine dichtere Stelle im Gerüstwerk dauernd sich markieren" (p. 497). Discussion centres round this statement. The individuality of the chromosomes can be recognised in resting nuclei according to the degree of dissolution sustained by the chromosomes of the preceding division. Disintegration may be so slight as to allow of identification of the chromosomes with the deeply staining bodies of the succeeding resting phases; it may however be so complete as to obliterate all visible chromosome individuality. Between these two extremes all grades of intermediate indications of chromosome identity may occur. MARTINS (31) and DAVIS (7) have shown that the chromatic bodies of the resting stage are identical with, or are certainly derived from, the chromosomes of the preceding telophase. FRISENDAHL (15) states that the paired 'Chromatinkörner' are transverse segments of the longitudinally split chromosomes of the preceding telophase. A somewhat similar condition was found in Galtonia (9) though the facts, as to the origin of the paired chromatic portions, were not so definitely ascertained. GRÉGOIRE (20) described alveolised chromatic concentrations in the presynaptic stages of certain plants, and considered them not as 'gamosomes' but as "tronçons de bandes chromosomiques". Or again the chromosomes at telophase may resolve themselves into elementary reticula, as described by GRÉGOIRE (18) and by OVERTON (42), and these retain their independence during the resting period, and reconcentrate during prophase. In *Periplaneta americana* FARMER and MOORE (11) have observed cloudy areas which represent the future chromosomes, and gradually condense to form them. Complete chromosome disintegration is to be found in certain resting nuclei, as in some cereals (37) and Primulas (10), and consequently these resting nuclei possess little visible chromatic contents. NAKAO (37) describes the resting nuclei as being slightly darker than the surrounding cytoplasm, and the chromatic bodies as gradually making their appearance at the approach of prophase. In Primula the nucleolus exudes droplets of its substance which become chromatic and thereupon resemble definite chromatic bodies.

The above observations demonstrate that there is a wide range in the degree of dissolution exhibited by the chromosomes at telophase, and this results in varied concentrations of chromatic elements in the ensuing rest. In some cases the identity of the chromosomes remains more or less recognisable, whilst in others it is completely obliterated, though invisibility need not involve loss of real identity.

The controversial matter concerns the definite chromatic bodies found in certain resting nuclei; do they represent chromosomes, and thus testify to the individuality of chromosomes throughout interkinesis, or are they mere aggregations of chromatin?

In the introduction, the observations and views of certain investigators have been briefly recorded. At first sight it would appear as if their divergent results could not be coordinated. Contradictory data have even been derived from the examination of identical tissues. Nevertheless, if the matter be analysed, some reasons for the diversity of expressed opinion can be found.

In the first place, it has been shown by ROSENBERG (44) that resting nuclei may be broadly divided into two classes; the *Fritillaria*-type having a fine reticulum with somewhat indefinite chromatic aggregations, and the *Capsella*-type having definite chromatic bodies. Many of the Monocotyledons belong to the first type, and of the Dicotyledons to the second. ROSENBERG (45) in this connnection has written "daß besonders unter den Monokotyledonen die Feststellung der Zahl der 'Chromatinklümpchen' mit großen Schwierigkeiten verbunden ist und in vielen Fällen überhaupt nicht gelingt" (p. 401).

The matter is further complicated by the fact that resting nuclei of any one animal or plant may exhibit varied degrees of concentration of their chromatic contents, and in fact both the Fritillaria and Capsella types may be present in the same individual. It is this circumstance which may account for the fundamentally different observations recorded. In the same animal or plant the chromatic nuclear contents may be more or less concentrated into definite aggregations and these may approximate in number to the chromosomes, or they may be distributed throughout the reticulum as small deeply staining granules. It has already been noted that GRÉGOIRE (20) and MOTTIER (35 and 36) have described two distinct types of presynaptic phases in various plants (see pp. 125 & 126) which are characterised by the relative distribution of the chromatic contents.

Moreover, this phenomenon undoubtedly explains the different results arrived at by ROSENBERG (46) and by BEER (3) with regard to the resting nuclei of *Crepis virens*. ROSENBERG observed the definite chromatic aggregation or 'prochromosome' type, whereas BEER saw that of the finer chromatic distribution. In this investigation both series of presynaptic prophases have been found in the same capitulum, but not in the same bud. In a section of a capitulum the resting nuclei, prior to the heterotype prophase, may show definite chromatic bodies in one bud, whilst in another they may have a fine reticulate structure. The

fact that nuclei subjected to precisely the same treatment respond in various ways to the action of the fixing fluid, suggests the presence of different physiological characters.

Further experiments have proved that the chemical constituents of the special fixing media used produce diverse effects, as shown by the disposition of the nuclear contents.

The Schreiners (50) in their experiments on animal cells found that resting nuclei fixed with Hermann's fluid showed a far finer chromatic precipitation than those fixed with acid sublimate which caused the chromatin to coalesce into larger masses. According to Rosenberg (48) 'prochromosomes' are far more indefinite in preparations fixed with Flemming's fixing formula than with that of Carnoy. "In mehreren Fällen habe ich gefunden, daß Prochromosomen mit großer Deutlichkeit in Carnoy fixiertem Material haben nachgewiesen werden können, während in Flemming-fixierten Präparaten von derselben Pflanze Prochromosomen nur mit Schwierigkeit sich nachweisen ließen" (p. 50).

It has, moreover, been shown that not only is the precipitation of chromatin affected by the constituent elements of the particular fixing fluid used, but also that the results are modified according to the speed of its penetration. Mottier (36) in his experiments on the ovules of Lilium, which have already been described (see p. 126), found that direct penetration caused a fine chromatic precipitation, whereas if the fluid had been weakened by previously passing through several layers of cells, the chromatin was precipitated in coarser lumps. Meves (32) observed that the chromatin of the resting nuclei of the extreme tip of the testis of *Salamandra maculosa* was so finely precipitated as to be indistinguishable as such, whilst that of the nuclei of the anterior lobe was massed into irregular aggregations.

Again, nutrition plays an important part in the development of the nuclear chromatic contents. Overton (40) has stated that prochromosomes are only to be found in "gut ernährten Zellkernen" (p. 124). Huie (23) and Rosenberg (47) have experimented on feeding Drosera with chemically different foods, and have obtained visible modifications in the nuclear contents. Huie has shown that white of egg and peptone produce a great increase in the chromatic substance, whereas such foods as nuclein and nucleic acid produce no such results. Rosenberg (47) has given an interesting series of drawings of resting nuclei taken from the tentacles of Drosera, demonstrating the response to the stimulation of food as shown by the increase or decrease of chromatin. He believes that the size of the prochromosomes is alone affected and that their number remains constant.

The age of the tissue may also have some bearing on the character of the chromatic contents of its resting nuclei. Rosenberg (45) found that "Chromatinklümpchen" are more constant in number in nuclei of tissues that have completed their growth (p. 402).

The facts enumerated above show that the same series of nuclei may exhibit different degrees of chromatic concentration; that this concentration may be altered by the specific fixing reagent used, and by the strength of the solution, and that physiological conditions such as nutrition and age affect the amount and disposition of the chromatic contents. When it is realised that all these factors have to be taken into consideration it is not to be wondered at that the results of observations on resting nuclei are often not in accordance.

Another, though minor, explanation for the diversity in published records is the difficulty of obtaining accurate counts of chromatic aggregations. Even Overton, who introduced the term 'prochromosome' into literature, and definitely correlated the numbers of the 'prochromosomes' with those of the chromosomes, was mistaken in his calculations. In his first paper on Thalictrum (40) he states that 24 is the somatic number of chromosomes, and that 24 prochromosomes appear in the presynaptic phases and pair as they go into synapsis. Subsequently (41) he realised that there were in fact 48 prochromosomes, the 24 representing pairs of prochromosomes. The oversight was due to the close association of the individuals of each pair. Moreover it is often difficult to discriminate between typical chromatic aggregations and other bodies, possibly chromatic granules and nucleolar fragments, which are constantly present in resting nuclei, and which afford controversial arguments as to their identity. Davis (6 and 7) has emphasized the impossibility of arriving at an accurate determination of the numbers. On the other hand, Rosenberg (48) found little difficulty in counting the prochromosomes of resting nuclei as he included all bodies that took the Haematoxylin stain (p. 51).

Those who regard chromatic bodies as 'prochromosomes' believe their appearance in the same number of the chromosomes to be indicative of their true nature. On the other hand, those who consider chromatic bodies to be merely aggregations of chromatin, in view of their number being variable, regard the fact that the number of chromatic bodies present in the resting nucleus is sometimes identical with that of the chromosomes, as a matter of chance to which no undue importance should be attached.

The unstable nature of the chromatic bodies has already been discussed, and it seems to be hardly possible to regard such variable structures as 'prochromosomes'. It now remains to enumerate two definite

reasons for regarding these chromatic bodies as expressions of mere chromatic concentration.

Firstly, they vary in number, in size, and in development, and secondly, as expressly pointed out by Grégoire (20), Tischler (60) and Laibach (26), the entire chromatic contents of the nucleus is not always concentrated in these bodies, but the residue may be distributed throughout the reticulum often marking the angles of the meshes.

For this reason some cytologists have objected to the name 'prochromosome'. Laibach (26) and Rosenberg (47) have suggested the term 'Chromozentren'. Rosenberg states that although he has been able to show that in some plants the 'Körper' may appear in resting nuclei in the number of the chromosomes, yet he does not consider that the name 'prochromosome' aptly describes them. "Diese Benennung ist entschieden nicht die glücklichste und ich fühle mich oft versucht, andere Namen vorzuschlagen, etwa Chromozentren oder dgl., die eigentlich nichts anderes aussagen sollen, als daß die chromatische Substanz des Kerns bei ihrer Entstehung in den Prophasen von gewissen Zentren ausgeht" (p. 163). Lundegardh (29) considers that the chromatic aggregations should rather be termed 'Prochromosomenteile' than prochromosomes, because the aggregations are frequently more numerous than the chromosomes.

The results of this investigation of the resting nuclei of *Crepis virens* confirm the view that the chromatic bodies are merely expressions of chromatic concentration, and are not 'prochromosomes' in the strict sense of that term.

II. The evolution of the heterotype chromosomes.

Farmer (12) has recently drawn attention to the confusion attending the terms 'telosynapsis' and 'parasynapsis', used as signifying the manner of pairing of somatic chromosomes in preparation for the heterotype division. Whether the somatic chromosomes are associated end to end or side by side in the spireme, is a matter of little importance, and it is generally agreed that both arrangements do occur. The fundamental, and important difference which is involved, rests on the interpretation to be placed on the presynaptic phases. Those who advocate the telosynaptic theory regard the parallelisms of the heterotype presynaptic prophases as homologous with those of the somatic prophases, and consequently as representing the condensation of two longitudinal halves of a single somatic chromosome derived from the preceding telophase; whilst those who advocate the parasynaptic theory regard the parallelisms of the heterotype presynaptic prophases as re-

presenting the approximation of two entire (homologous) somatic chromosomes.

The telosynaptic interpretation of the heterotype prophases is endorsed both by Goldschmidt (17) and by Häcker (22). They consider the paired arrangement in the chromatic contents of the heterotype prophases to be the expression of the future longitudinal fission. Häcker states that they are not the associations of "ursprünglich selbständiger Elemente" but the "Anlage eines frühzeitig gespaltenen Spirems" (p. 78).

Telosynaptists and parasynaptists are for the most part in agreement with regard to the evolution of the somatic mitosis. They recognise the separation of the longitudinal halves of each chromosome during the telophase, their reassociation during the ensuing prophase, and their gradual condensation until each longitudinal half becomes a daughter chromosome. Telosynaptists place the same interpretation on the parallel and condensing portions of the paired nuclear contents of the heterotype presynaptic prophases, whereas the parasynaptists regard these paired chromatic portions as representing the association in pairs of homologous chromosomes. The telosynaptists base their views largely on the close similarity between the somatic and heterotypic presynaptic prophases, which makes it difficult to believe that the paired portions can have a different significance in the two mitoses. Again, in those forms where there is no interkinetal rest between the last premeiotic mitosis and the meiotic prophase, it is possible to trace the origin of the paired portions of the heterotype prophases as segments of the longitudinally split chromosomes of the preceding telophase. Fraser and Snell (14) have contributed an important piece of evidence in favour of the telosynaptic view. They have compared the heterotype prophases with those of the gametophyte where "there is no question of the association of paternal and maternal structures since only a single set of chromosomes is present. But in the pollen-grain, exactly as in the cells of the root or flower, a double reticulum was observed, and here also the first evidence of duplication appears in the late telophase" (p. 848).

On the other hand, parasynaptists base their views largely on the similarity between the paired portions of the nuclear contents of the presynaptic and post synaptic phases. Their interpretation of the paired portions of the heterotype prophases involves a complete rearrangement of the elements of the chromosomes of the last premeiotic telophase. Frisendahl (15) has shown that the different significance attached to the parallelisms of the heterotype presynaptic prophases as compared to those of the somatic prophases, is revealed by the fact that whereas

in the somatic prophase, each fine thread which severally connects one split side of a chromatic portion with that of the next is single, in the heterotype prophase this thread is double, signifying that each side of the paired segments represents a portion of a whole univalent chromosome.

According to the telosynaptic view fission dividing the chromosomes into two longitudinal halves at the telophase of the last premeiotic division, reappears in the heterotype presynaptic prophase. On the other hand according to the parasynaptic view this fission is not visible in the presynaptic phases. Both sets of observers are in fairly close agreement as to its subsequent reappearance. It is more or less obliterated during the postsynaptic phases and then reappears in the univalent segments of the bivalent heterotype chromosomes, and after being strikingly visible during the heterotype anaphase and telophase, it finally takes effect and cleaves the daughter chromosomes on the homotype spindle.

The study of *Crepis virens* does not throw much light on these controversial questions. During the telophase of the last archesporial division, the chromosomes become completely unrecognisable, so far as separate identity is concerned, and the chromatic bodies of the resting stages appear 'de novo' by chromatic concentration. Rosenberg (46) holds that the paired chromatic bodies of the prophases represent the associations of homologous chromosomes. On the other hand evidence afforded by this investigation points strongly to the conclusion that these paired bodies are the result of fission and not of approximation. The chief reason for this view lies in the fact that the chromatic bodies increase in number as the prophase advances, and furthermore that all stages in the process of fission can be recognised. Chromatic bodies exhibiting a similar paired arrangement are to be seen both in the 'resting' nuclei of the archesporium, and in the resting tetrad nuclei. In both these cases the pairing is interpreted as an early fission preparatory for the next mitosis. Rosenberg (47), in his experiments in feeding Drosera, found similar cases of closely paired bodies. He was not able definitely to decide whether they were the result of fission or of association, but inclined to the view of association. If the interpretation that the paired bodies originate from fission be correct, then the original chromatic body, formed by the concentration of chromatin, must represent a portion of a whole chromosome. In the alternative series of presynaptic phases in which the chromatin is more finely distributed as beads in a linin reticulum, a converse series of events ensues. Beaded threads, each of which is regarded as a longitudinal half of a univalent segment resulting from the preceding telophasic fission,

run parallel to one another and condense to form whole univalent strands. The space between the condensing halves is the line of fission which will divide the daughter univalent chromosomes on the homotype spindle. The pairing of the threads in these presynaptic phases is therefore homologous with the pairing of the threads in the somatic prophases.

Reference has already been made to the fact that it matters little whether the association of the univalent segments in the postsynaptic phases be end to end, or in parallel series. Telosynaptists attach particular importance to the second contraction, during which, as first observed by Farmer and Moore (11), the pairing of univalent segments is completed. On the other hand, parasynaptists regard the whole series of postsynaptic phases as equally concerned in the fulfilment of the pairing of univalent chromosomes inaugurated during the presynaptic prophases.

Again, in *Crepis virens*, the evolution of the heterotype chromosomes, notwithstanding their low number, is not easy to follow on account of the extremely viscous character of the nuclear contents. Many of the lengths of spireme, as they come out of synapsis, can be recognised as bivalent in nature, whilst other lengths afford no clue as to their character. The association of the univalent segments of the bivalent strands may be complete, showing no trace of separation, or the association may be loose, the univalent segments being widely parted along lengths of their course. There is no typical open spireme stage, the spireme passes almost immediately into second contraction. In the phases centring round second contraction the univalent spiremes may be associated end to end, or side by side, or in many intermediate ways. As the associated univalent segments come out of second contraction they concentrate, and each pair becomes a heterotype chromosome. By closely following the sequence of events it can be ascertained that, the univalent segment of spireme, which emerges from synapsis, is homologous with the univalent segment which issues from second contraction, and this has then but to concentrate to become the univalent segment of the bivalent chromosome.

The study of the heterotype phase of *Crepis virens* suggests that during synapsis, not only a sorting out of univalent segments takes place, but also an association in pairs of the said univalent segments, an association which is completed during second contraction.

Summary.

1. Definite chromatic bodies have been found in the resting nuclei of the tapetum, in the resting nuclei between the last archesporial division and the heterotype prophase, and in the resting tetrad nuclei. Their

number is inconstant and appears to vary between one and six, but apparently seldom exceeds six. On account of the inconstancy in the number of the bodies, and the fact that the entire chromatic contents of the nucleus are not concentrated in them, they are believed to be merely aggregations of chromatin and not true 'prochromosomes'.

No completely 'resting' nuclei were found amongst the archesporial tissue, but in those which exhibited the nearest approach to 'rest', chromatic bodies were present, and the remainder of the chromatin was distributed as granules in a definite linin reticulum, giving the nucleus a somewhat active appearance.

2. In the premeiotic resting nuclei the chromatin is for the most part concentrated in the deeply staining bodies and in the nucleolus. As the nucleus passes into the heterotype prophase the bodies split longitudinally, their split sides fragment, become rounded, and enter synapsis as large beads.

3. It is impossible, owing to the complete disorganisation of the chromosomes during interkinesis, to trace the homology between the segments of the chromosomes of the telophase of the last premeiotic division, and the chromatic bodies of the ensuing rest which precedes the meiotic prophase. The fine chromatic precipitate gradually recondenses to form chromatic beads, and these concentrate into fewer and fewer chromatic bodies as the more definite resting phase is approached. From the sequence of events, and from comparative analogies, it is considered that the chromatic bodies represent portions of entire somatic chromosomes, and consequently that the fission which appears in their substance and eventually separates each into two daughter halves, is homologous with the fission in the substance of the spireme of the somatic prophases, and will eventually cleave the daughter-chromosomes on the homotype spindle.

Similarly the relationship between the chromatic bodies of the resting tetrad nucleus and the chromosome segments of the homotype telophase could not be ascertained, on account of the fragmentation of the chromosomes during telophase, and the subsequent gradual condensation of the chromatic contents into definite bodies.

4. *Crepis virens* shows two alternative series of presynaptic phases, and these may occur in the same inflorescence. In the one series, the chromatic contents are aggregated into definite chromatic bodies, while in the other, the chromatin is more finely distributed as small beads throughout the nuclear reticulum. In the first type the chromatic contents enter synapsis as large chromatin beads derived from the split sides of the

chromatic bodies, whilst in the second, the chromatic contents, in the form of fine granules, are withdrawn with the reticulum, into synapsis.

5. Globules of a faintly staining substance may be given off from the synaptic knot, and from the mass of the second contraction. These globules are at first attached to the nuclear contents, but the connections are broken as they pass into the cytoplasm where they become chromatic in staining reaction.

6. The evolution of the heterotype chromosomes is somewhat obscure owing to the viscous nature of the chromatic contents. Nevertheless, events strongly suggest that, during synapsis, homologous univalent segments are for the most part arranged side by side, in pairs. As the loops come out of synapsis all degrees in the separation of the univalent segments can be seen. Throughout the postsynaptic stages the univalent segments of each pair may either show a parallel (parasynapsis), or a terminal (telosynapsis) association, or many an intermediate arrangement. In some cases the lengths of parallel spireme are so closely approximated that the resulting bivalent segment exhibits no trace of its duplex nature; in others the univalent lengths may diverge for part of their length, while in others they may be entirely separate except at their ends which join, and thus form a loop. The univalent spireme segments gradually concentrate, and finally disjoin, as univalent chromosomes, on the heterotype spindle.

7. In the meiotic phase true fission (homologous with that of the somatic divisions) which ultimately divides the univalent chromosomes into their daughter halves on the homotype spindle, makes its first appearance as the split in the chromatic bodies of the coarser chromatic presynaptic prophases. These chromatic bodies are considered to be portions of whole somatic chromosomes. In the finer chromatic presynaptic phases the future fission is represented by the space between parallel beaded threads, which are condensing to form lengths of whole univalent spireme. The fission becomes obliterated throughout the postsynaptic and second contraction phases. It may be once more recognised in the substance of the univalent segments as they condense to form the heterotype chromosome, and later is evident in the chromosomes as they pass to the poles of the heterotype spindle; and again is once more strikingly apparent at the telophase of the heterotype division. There is no rest between the heterotype and homotype divisions, and the fission directly cleaves the univalent chromosomes, into their daughter halves, on the homotype spindle.

8. Each chromosome of the premeiotic and meiotic divisions is evolved in portions, and these only join together to form the completed chromosome, prior to the indication of the spindle. Conversely, one or more chromosomes may segment transversely at anaphase, thus causing the chromosomes to appear more in number than the six typical of the somatic divisions, and the three of the meiotic divisions.

In conclusion I wish to express my thanks to Professor J. Bretland Farmer for the valuable advice and criticism that he has given me throughout the course of this investigation.

Royal College of Science, London.

Bibliography.

1. Allen, C. E. ('06). II. Das Verhalten der Kernsubstanzen während der Synapsis in den Pollenmutterzellen von Lilium canadense. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Leipzig. Bd. XLII. S. 72—82.
2. Auerbach, L. ('90). Zur Kenntnis der tierischen Zellen. Sitzungsber. d. Kgl. preuß. Akademie d. Wissensch. zu Berlin. II. Halbband. S. 735—749.
3 Beer, R. ('12). Studies in Spore Development. II. On the Structure and Division of the Nuclei in the Compositae. Ann. of Bot. Vol. XXVI. No. 103. July. p. 705—726.
4. Cardiff, I. D. ('06). A study of synapsis and reduction. Bull. of the Torrey Bot. Club. Vol. XXXIII. p. 271—306.
5. Davis, B. M. ('09). Cytological Studies on Oenothera. I. Pollen Development of Oenothera grandiflora. Ann. of Bot. Vol. XXIII. No. 92. Oct. p. 551 to 571.
6. —— ('10). Cytological Studies on Oenothera. II. The Reduction Divisions of Oenothera biennis. Ann. of Bot. Vol. XXIV. No. 96. Oct. p. 631—651.
7. —— ('11). Cytological Studies on Oenothera. III. A Comparison of the Reduction Divisions of Oenothera Lamarckiana and O. gigas. Ann. of Bot. Vol. XXV. No. 100. Oct. p. 941—974.
8. Digby, L. ('09). Observations on "Chromatin Bodies" and their Relation to the Nucleolus in Galtonia candicans, Decsne. Ann. of Bot. Vol. XXIII. No. 91. July. p. 491—502.
9. —— ('10). The Somatic, Premeiotic, and Meiotic Nuclear Divisions of Galtonia candicans. Ann. of Bot. Vol. XXIV. No. 96. Oct. p. 727—757.
10. —— ('12). The Cytology of Primula kewensis and of other related Primula Hybrids. Ann. of Bot. Vol. XXVI. No. 102. April. p. 357—388.
11. Farmer, J. B. and Moore, J. E. S. ('05). On the Maiotic Phase (Reduction Divisions) in Animals and Plants. Quart. Journ. Micr. Sc. Vol. XLVIII. p. 489—557.
12. Farmer, J. B. ('12). Telosynapsis and Parasynapsis. Ann. of Bot. Vol. XXVI. No. 102. April. p. 623—624.

13. Fick, R. ('05). Betrachtungen über die Chromosomen, ihre Individualität, Reduction, und Vererbung. Archiv. für Anat. und Physiol., Anat. Abt. mit Supplement. S. 179—228.
14. Fraser, H. C. I. and Snell, J. ('11). The Vegetative Divisions in Vicia faba Ann. of Bot. Vol. XXV. No. C. Oct. p. 845—855.
15. Frisendahl, A. ('12). Cytologische und Entwicklungsgeschichtliche Studien an Myricaria germanica Desv. Kungl. Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar. Uppsala und Stockholm. Vol. XLVIII. No. 7. p. 3—62.
16. Gates, R. R. ('08). A Study of Reduction in Oenothera rubrinervis. Bot. Gaz. Chicago. Vol. XLVI. p. 1—34.
17. Goldschmidt, R. ('05). Eireifung, Befruchtung und Embryonalentwicklung des Zoogonus mirus. Lss. Zool. Jahrb., Anat. Jena. Bd. XXI. S. 607—654.
18. Grégoire, V. et Wygaerts, A. (04). La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes. I. Racines de Trillium grandiflorum et télophase homoeotypique dans le Trillium cernum. La Cellule. T. XXI. I. fasc. p. 7—76.
19. Grégoire, V. ('06). La structure de l'élément chromosomique au repos et en division dans les cellules végétales (Racines d'Allium). La Cellule. T. XXIII. 2. fasc. p. 311—357.
20. —— ('07). La formation des gemini hétérotypiques dans les végétaux. La Cellule. Lierre et Louvain. T. XXIV. 2. fasc. p. 369—420.
21. —— ('13). La télophase et la prophase dans la caryocinèse somatique. Comptes rendus. T. CLVI. p. 631. 24 février. p. 1—3.
22. Häcker, V. ('09). Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. Ergebn. Fortschr. Zool. Jena. Bd. I. S. 1—136.
23. Huie, L. H. ('99). Further Study of Cytological Changes produced in Drosera. Quart. Journ. Micr. Sc. Vol. XLII. p. 203—222.
24. Juel, H. O. ('05). Die Tetradenteilungen bei Taraxacum und anderen Cichorieen. Kungl. Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar. Uppsala und Stockholm. XXXIX. No. 4. p. 1—21.
25. Lagerberg, T. ('06). Über die präsynaptische und synaptische Entwicklung der Kerne in den Embryosackmutterzellen von Adoxa moschatellina. Botaniska Studier tillägn. F. R. Kjellman, Uppsala. p. 80—88.
26. Laibach, F. ('07). Zur Frage nach der Individualität der Chromosomen im Pflanzenreich. Beih. z. Bot. Centralblatt. Dresden. Bd. XXII. Abt. 1. S. 191—210.
27. Lewis, I. M. ('08). The Behaviour of the Chromosomes in Pinus and Thuja. Ann. of Bot. Vol. XXII. No. 88. p. 529—556.
28. Lubimenko, W. et Maige, A. ('07). Recherches Cytologiques sur le Développement des Cellules-Mères du Pollen. Revue Générale de Bot. Paris. T. XIX. p. 474—505.
29. Lundegardh, H. ('09). Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger dicotylen Pflanzen. Sv. Bot. Tids. Stockholm. Bd. III. 1. Heft. S. 78—124.
30. Malte, M. O. ('08). Om Cellkärnans byggnad hos Enphorbiaceerna. (Mit einem deutschen Resumé). Bot. Not. Nordstredt, Lund. p. 75—87.
31. Martins Mano, T. ('05). Nucléole et Chromosomes dans le Méristème Radiculaire de Solanum tuberosum et Phaseolus vulgaris. La Cellule. T. XXII. 1. fasc. p. 57—77.

32. Meves, F. ('97). Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von Salamandra maculosa. Arch. f. mikr. Anat. Bonn. Bd. XLVIII. (1896 bis 1897.) S. 1—83.

33. Miyake, K. ('06). III. Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Monokotylen. Pringsh. Jahrb. wiss. Bot. Leipzig. Bd. XLII. S. 83—120.

34. Moore, J. E. S. and Embleton, A. L. ('06). On the Synapsis in Amphibia. Proc. of the Roy. Soc. of London. Ser. B. Vol. LXXVII. (1905—1906.) p. 555—562.

35. Mottier, D. M. ('07): The Development of the Heterotypic Chromosomes in Pollen Mother-cells. Ann. of Bot. Vol. XXI. No. 83. p. 309—347.

36. —— ('09). On the Prophases of the Heterotypic Mitosis in the Embryo-sac Mother-cell of Lilium. Ann. of Bot. Vol. XXIII. No. 91. p. 343—352.

37. Nakao, M. ('11). Cytological Studies on the Nuclear Division of the Pollen Mother-Cells of some Cereals and their Hybrids. Journ. of the College of Agriculture. Sapporo. Vol. IV. Part. 3. p. 173—190.

38. Nichols, M. L. ('08). The Development of the Pollen of Sarracenia. Bot. Gaz. Chicago. Vol. XLV. p. 31—37.

39. Ostenfeld, C. H. and Rosenberg, O. ('07). Experimental and Cytological Studies in the Hieracia. II. Cytological Studies on the Apogamy in Hieracium by O. Rosenberg. Bot. Tids. Köbenhavn. Vol. XXVIII. 1.—2. Hälfte. p. 143—170.

40. Overton, J. B. ('06). IV. Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen. Pringsh. Jahrb. wiss. Bot. Leipzig. Bd. XLII. S. 121—153.

41. —— ('09). On the Organization of the Nuclei in the Pollen Mother-cells of Certain Plants, with Especial Reference to the Permanence of the Chromosomes. Ann. of Bot. Vol. XXIII. No. 89. p. 19—61.

42. —— ('11). On the Organization and Reconstruction of the Nuclei in the Roottips of Podophyllum peltatum. Science, New York. New Series. Vol. XXXIII. p. 193—194.

43. Rosen, F. ('92). Beiträge zur Kenntnis der Pflanzenzellen. Cohns Beitr. zur Biologie der Pflanzen. Breslau. Bd. V. 3. Heft. S. 443—459.

44. Rosenberg, O. ('04). Über die Individualität der Chromosomen im Pflanzenreich. Flora. Marburg. Bd. XCIII. S. 251—259.

45. —— ('07). Zur Kenntnis der präsynaptischen Entwicklungsphasen der Reduktionsteilung. Sv. Bot. Tids. Stockholm. Bd. I. S. 398—410.

46. —— ('09). Zur Kenntnis von den Tetradenteilungen der Compositen. Sv. Bot. Tids. Stockholm. Bd. III. Heft 1. S. 64—77.

47. —— ('09). Über den Bau des Ruhekerns. Sv. Bot. Tids. Stockholm. Bd. III. Heft 2. S. 163—173.

48. —— ('09). Cytologische und Morphologische Studien an Drosera longifolia × rotundifolia. Kungl. Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar. Uppsala und Stockholm. Bd. XLIII. No. 11. S. 3—65.

49. Schaffner, J. H. ('09). The Reduction Division in the Microsporocytes of Agave virginica. Bot. Gaz. Chicago. Vol. XLVII. p. 198—214.

50. Schreiner, A. und K. E. ('05). Über die Entwickelung der männlichen Geschlechtszellen von Myxine glutinosa (L.). Arch. Biol. Liège et Paris. T. XXI. p. 183—314.

51. Strasburger, E. ('97). Über Cytoplasmastructuren, Kern und Zelltheilung. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Berlin. Bd. XXX. S. 375—405.

52. Strasburger, E. ('04). Über Reduktionsteilung. Sitzungsber. Königl. Preuß. Akad. Wiss. zu Berlin. I. Halbband. S. 587—614.
53. —— ('06). I. Typische und allotypische Kernteilung. Ergebnisse und Erörterungen. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Leipzig. Bd. XLII. S. 1—71.
54. —— ('07). Über die Individualität der Chromosomen und die Pfropfhybriden-Frage. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Leipzig. Bd. XLIV. S. 482—555.
55. —— ('08). Chromosomenzahlen, Plasmastrukturen, Vererbungsträger und Reduktionsteilung. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Leipzig. Bd. XLV. S. 479—570.
56. Sykes, M. G. ('08). Nuclear Division in Funkia. Arch. f. Zellforschung. Leipzig. Bd. I. S. 380—398.
57. Tahara, M. ('10). Über die Zahl der Chromosomen von Crepis japonica Benth. Bot. Mag. Tokyo. Bd. XXIV. S. 23—27.
58. —— ('10). Über die Kernteilung bei Morus. Bot. Mag. Tokyo. Bd. XXIV. No. 287. S. 281—289.
59. Tahara, M. and Ishikawa, M. ('11). The Number of Chromosomes of Crepis lanceolata var. platyphyllum. Bot. Mag. Tokyo. Vol. XXV. No. 290. p. 119—120.
60. Tischler, G. ('06). Über die Entwicklung der Sexualorgane bei einem sterilen Bryonia-Bastard. Ber. deut. bot. Gesellsch. Berlin. Bd. XXIV. S. 83—96.
61. Yamanouchi, S. ('06). The Life History of Polysiphonia violacea. Bot. Gaz. Chicago. Bd. XLII. p. 401—449.
62. —— ('09). Mitosis in Fucus. Bot. Gaz. Chicago. Vol. XLVII. p. 173—197.
63. Zacharias, E. ('95). Über das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. Flora. Marburg. Bd. LXXXI. S. 217—266.

Explanation of Plates.

All the figures were drawn with the camera lucida under a 2 mm. apochr. Hom. imm. Zeiss, N.A. 1,40 with comp. oc. 18 × about 2,900.

Figs. 1—30. *Crepis virens.* Archesporial divisions.

Figs. 31—45. Rest between the last archesporial division and the heterotype prophase.

Figs. 46—89. First meiotic division.

Figs. 90—96. Second meiotic division.

Figs. 97—101. Tetrad nuclei going into rest.

Figs. 102—110. Alternative series of presynaptic phases.

Figs. 111—117. Presynaptic phases fixed with acetic alcohol.

Figs. 118—120. Resting tapetal nuclei.

Plate VIII.

Fig. 1. Early telophase of an archesporial division.

Fig. 2. Late telophase in which the chromosomes have lost their individuality and have formed a beaded spireme.

Fig. 3. Further dissolution of the chromosomes resulting in a fine chromatic precipitation.

Fig. 4. A cell wall has been laid down between the two daughter nuclei; the chromatic nuclear contents are aggregating into definite beads, some of which show a paired arrangement. Note the chromatic bodies in the surrounding cytoplasm may also be paired.

Fig. 5. Further concentration of the chromatic contents into fewer and more definite bodies.

Fig. 6. The nearest approach to a resting nucleus found amongst the archesporial divisions. Some of the chromatin is concentrated into two bodies, one of which is paired, the remainder is distributed in the reticulate linin. Note the paired chromatic bodies in the cytoplasm.

Fig. 7. Very early prophase. The chromatic bodies have begun to disintegrate and their substance is being distributed as small beads. The linin forms more definite strands.

Figs. 8 and 9. Slightly later prophase in which the chromatin is scattered in the meshes of the reticulate linin as beads of various sizes. The beads may still be paired.

Fig. 10. The nuclear contents are more or less peripherally arranged, and consist of fine strands with chromatic beads arranged in the angles and along the lengths of the reticulum.

Fig. 11. The strands with their chromatin beads begin to show a parallel arrangement.

Fig. 12. The strands situated at the nuclear periphery often appear to show accentuated parallelisms.

Fig. 13. The chromatin concentrates into strands and larger beads. Note the condensation of two parallel strands.

Figs. 14, 15 and 16. Show progressive stages in chromatin concentration. At the same time the chromatin begins to diffuse throughout the linin reticulum.

Figs. 17, 18, 19 and 20. The chromatic portions collect into groups; in some condensing portions the beaded sides are distinct, whilst in others a faintly staining area alone indicates their future line of separation.

Fig. 21. The concentrated portions have become more or less homogeneous. In parts fission in their substance is visible. At this stage, more than the six typical chromosomes appear to be about to be evolved.

Fig. 22. The condensed segments unite end to end to form lengths of spireme. These are for the most part homogeneous, but fission can be seen in portions.

Fig. 23. The joining together of the spireme segments proceeds, and at the same time fission in their substance becomes more apparent.

Fig. 24. The spireme has sorted out into the six chromosomes which are wavy in outline, and are constantly orientated towards the nucleolus.

Fig. 25. Further concentration of the chromosome segments which may be still orientated towards the nucleolus.

Fig. 26. The chromosomes separate from one another and pass to the periphery of the nucleus.

Fig. 27. Polar view of an equatorial plate. Note the different sizes of the six longitudinally split chromosomes.

Fig. 28. Profile view of an equatorial plate.

Fig. 29. Polar view of an early anaphase. The daughter halves of the small chromosome have already separated from one another, whilst those of the two larger chromosomes are in process of separating.

Fig. 30. Early telophase of the last archesporial division.

Fig. 31. Late telophase of the last archesporial division, showing the dissolution of the chromosomes into small, and more or less uniformly sized, chromatic beads, scattered in a very fine reticulate linin. Figs. 31—45 illustrate the gradual transition into the 'rest' between the last archesporial telophase and the heterotype prophase.

Fig. 32. Later stage in which the chromatin is collecting into definite groups leaving the linin as a sharply defined reticulum.

Fig. 33. The chromatin is becoming increasingly concentrated into large chromatic beads.

Fig. 34. Concentration of the chromatic nuclear contents proceeds, leaving the linin as a more or less colourless reticulum.

Figs. 35 and 36. The chromatic bodies become fewer in number as the nuclei pass into the premeiotic rest.

Plate IX.

Figs. 37 and 38. As the chromatin concentrates into fewer aggregations these bodies become larger, more definite, and more deeply staining.

Fig. 39. Shows a nucleus going into rest with seven definite chromatic bodies.

Fig. 40. The chromatic bodies are reduced in number, but smaller chromatic granules are scattered in the reticulum.

Fig. 41. A nucleus with three bodies and a few chromatic granules.

Fig. 42. Completely resting nucleus showing two definite chromatic bodies and a possible third which is in close association with the nucleolus. The linin is a colorless and fine reticulum.

Fig. 43. Nucleus with apparently six chromatic bodies, one of which is closely associated with the nucleolus.

Fig. 44. Nucleus with four chromatic bodies, one of which shows a paired arrangement.

Fig. 45. A nucleus with three definite bodies and one which is more faintly staining.

Fig. 46. Heterotype division: In the chromatic body situated to the north of the nucleolus the first indication of a split is visible, causing the body to be slightly V shaped.

Fig. 47. Chromatic bodies showing two stages in the process of splitting. In the one case the two halves are merely separated by a light area and are V shaped; in the other they are disposed to one another as the arms of an x.

Fig. 48. The two split sides of one of the chromatic bodies appear as rods with a small space between them.

Fig. 49. Two of the chromatic bodies have split, and the rounded sides lie closely approximated to one another. A thread passes to each of the halves, and the two threads run parallel to one another.

Fig. 50. In the right portion of the nucleus a split chromatic body is seen which has apparently also segmented transversely, and the segments of each side are connected by parallel threads, this shows the beginning of the breaking up of the daughter halves of the chromatic bodies prior to synapsis.

Fig. 51. The segmented sides of the split chromatic body may become beaded as shown by the body situated in the left portion of the nucleus.

Fig. 52. A nucleus with three, or possibly four split chromatic bodies. The posterior portion of the second one lies at a higher focus than the anterior portion, and is probably independent of it. The split sides of the bodies are beginning to fragment and to round themselves off as beads. Note the increasingly definite character of the linin.

Fig. 53. The chromatic bodies exhibit degrees of fission and disintegration.

Fig. 54. Shows the longitudinally divided bodies and the parallel linin threads which join the various paired portions to one another.

Fig. 55. The split sides separate and at the same time fragment.

Fig. 56. The linin begins to contract away from the nuclear periphery, preparatory to synapsis. It draws in with it the beaded portions derived from the segmented split sides of the chromatic bodies, and these collect round the nucleolus.

Fig. 57. As synapsis approaches the linin becomes more definitely reticulate, and the substance of the chromatic bodies gradually diffuses throughout it.

Figs. 58, 59 and 60. Show stages in the contraction leading to synapsis. The portions of chromatic bodies appear as rounded beads lying in the linin matrix.

Fig. 61. The chromatic beads break up into smaller granules. By this time the nuclear contents are closely aggregated round the nucleolus.

Fig. 62. Complete synapsis showing the massing together of the chromatic beads and linin forming a finely granular synaptic knot.

Fig. 63. A synaptic knot which as it begins to loosen, is exuding globules of faintly staining material from its substance.

Fig. 64. The loosening of the synaptic knot. Some of the bivalent beaded loops may occasionally show a clear space in their substance, this space separates univalent lengths of spireme.

Fig. 65. As the spireme comes out of synapsis it may lose its beaded character and become more or less homogeneous. The univalent segments may be widely separated for a length and then so closely associated as to form, apparently, a single thick bivalent segment.

Figs. 66 and 67. When the spireme has come out of synapsis it once more assumes a more or less reticulate character, the chromatin being concentrated into beads. Where the bivalent spireme lengths are more concentrated. a space indicating the separation of the univalent spiremes is often to be seen.

Fig. 68. The nuclear contents proceed at once to prepare for second contraction. The substance of the chromatic beads becomes again diffused into more or less homogeneous bivalent and univalent lengths of spireme.

Fig. 69. Shows loops of spireme going into second contraction. The two univalent sides of the loop, on the right, are separate except at their ends. This point of junction is marked by a chromatic swelling.

Fig. 70. Further concentration for second contraction. The univalent segments of the loop in the north part of the nucleus are in close approximation for a certain length, and then become widely separated.

Fig. 71. In the lower loops the univalent segments are twisted round one another and then diverge.

Fig. 72. Shows various phases in the separation of univalent lengths of spireme. In the segment in the right side of the nucleus the two univalent threads are united by large beads of chromatin.

Fig. 73. In one bivalent segment the univalent lengths are completely separate, whilst in the other they are joined at their ends to form a loop.

Fig. 74. Complete second contraction. The homogeneous bivalent loops show no sign of their duplex character, their component univalent segments being closely associated.

Fig. 75. Complete second contraction, the segment in the south part of the nucleus has divided into its two univalent lengths; a chromatic swelling marks their point of union.

Fig. 76. The coming out of second contraction. Two bivalent loops show traces of separation of the univalent segments.

Fig. 77. Loosening of the second contraction. Some of the portions are concentrated, whilst others show indications of the separation of the univalent segments.

Fig. 78. Shows the sorting out of the segments as they come out of second contraction. There is great diversity in their appearance. In some cases the univalent segments have separated along their lengths, and have but to condense to form the bivalent chromosomes. True fission in the substance of the univalent segment is to be seen in the segment situated in the left portion of the nucleus.

Fig. 79. A nucleus which has just come out of second contraction. The separating univalent strands, owing to their extremely viscous character. are drawn out producing a very confused appearance.

Fig. 80. As the univalent segments separate, they gradually become concentrated. Even at this stage it is impossible to distinguish the limits of the three chromosomes.

Fig. 81. As concentration proceeds the individual chromosomes can be recognised.

Fig. 82. The three bivalent chromosomes.

Plate X.

Fig. 83. Equatorial plate of the first meiotic division.

Fig. 84. The passing of the chromosomes to the poles, at which the small chromosomes are the first to arrive.

Fig. 85. The arrival of all the chromosomes at the spindle poles.

Fig. 86. Close association of the chromosomes in anaphase.

Fig. 87. Anaphase of the heterotype division with apparently five chromosomes probably due to the transverse segmentation of two of the chromosomes.

Fig. 88. The chromosomes have separated out and are dividing into their longitudinal halves. In the upper nucleus the identity of the three chromosomes is still maintained, whilst in the lower it is partly obliterated.

Fig. 89. Further stage in the dissolution of the chromosomes.

Fig. 90. Homotype division: showing the reconcentration of the chromatic segments and the elongation of the cytoplasm at right angles to the plane of the previous spindle.

Fig. 91. Concentration of the chromosomes, but the limits of the three chromosomes are as yet not clearly defined.

Fig. 92. Polar view of the equatorial plate of the homotype division.

Fig. 93. The passing of the chromosomes to the poles of the homotype division.

Fig. 94. Late anaphase of the homotype division showing the separation of the chromosome segments.

Fig. 95. Telophase of the homotype division. The remains of the chromosomes may be recognised either as homogeneous chromatic portions, or as paired beads, or the portions may show fission in their substance.

Fig. 96. The tetrads are about to separate. The chromatic contents of the nuclei are visible as rounded beads.

Fig. 97. Tetrad nucleus. As the tetrad nuclei pass into rest the chromatic beads fragment.

Fig. 98. The beads gradually concentrate to form larger aggregations. One such aggregation is seen in this nucleus.

Fig. 99. Shows the diminution in number of the chromatic beads as they gradually amalgamate.

Fig. 100. Resting tetrad nucleus with two definite chromatic bodies, one of which is composed of two rounded chromatic beads. Linin strands with other faintly staining beads traverse the nucleus.

Fig. 101. Resting tetrad nucleus with two chromatic bodies. The linin with its faintly staining granules shows a paired arrangement.

Fig. 102. Alternative series of presynaptic phases. Early prophase showing the linin reticulum and a fine distribution of chromatin in its meshes. In parts the chromatic contents are concentrated into larger masses. This series Figs. 102—110 has been fixed with Merkel and has been taken from the same slides as Figs. 40—62.

Fig. 103. Later stage in which the chromatin is more widely distributed as small beads throughout the linin.

Fig. 104. The beads begin to collect together, and the pairing of beaded threads is to be seen.

Fig. 105. Further concentration of the chromatin especially at the periphery of the nucleus.

Figs. 106 and 107. The concentration of the chromatin, and the approximation of paired strands, results in the formation of thickened beaded portions, and dense amalgamations of chromatin.

Figs. 108 and 109. Show stages in the withdrawal of the reticulum with the various sized chromatic beads preparatory to synapsis.

Fig. 110. The nuclear contents are becoming closely massed prior to complete synapsis.

Fig. 111. Resting nucleus between the last archesporial division and the heterotype prophase showing definite chromatic bodies. This series of presynaptic phases Figs. 111—117 has been taken from a slide fixed with acetic alcohol.

Fig. 112. Resting nucleus with chromatic aggregations.

Fig. 113. Early heterotype prophase. The chromatic bodies are beginning to show signs of fission.

Fig. 114. Each split side of a chromatic body rounds itself off as a bead; a chromatic body therefore is often represented by a pair of beads.

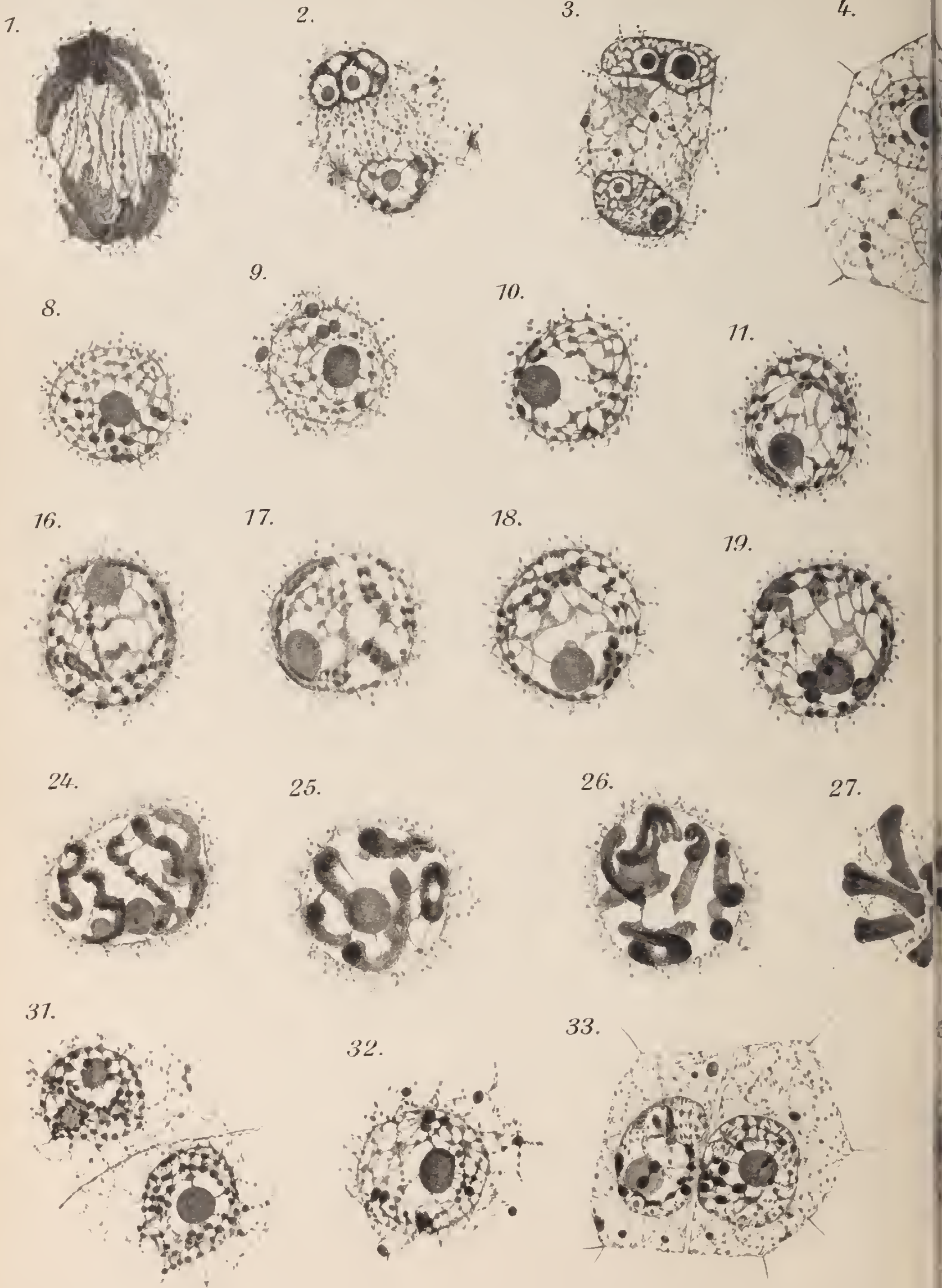
Figs. 115 and 116. The beads begin to concentrate, and to collect in groups prior to synapsis.

Fig. 117. A superficial section of a nucleus whose contents are massing together preparatory for synapsis. The chromatic substance diffuses throughout the linin, leaving no aggregations of chromatin.

Fig. 118. Tapetum. Resting nucleus with one chromatic body.

Fig. 119. Resting tapetal nucleus with two chromatic bodies.

Fig. 120. Resting tapetal nucleus with three chromatic bodies.

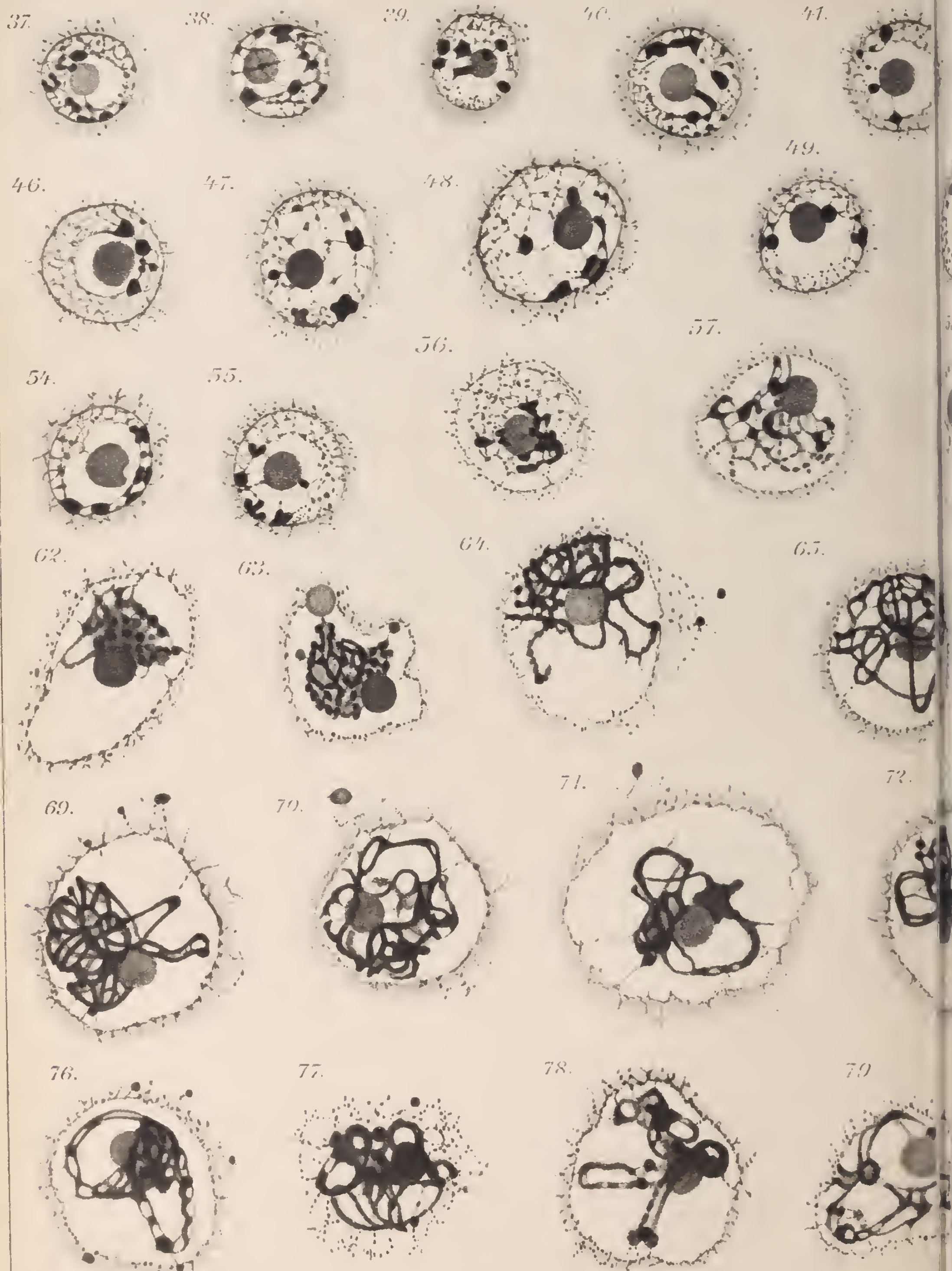


Verlag v Wilhelm E

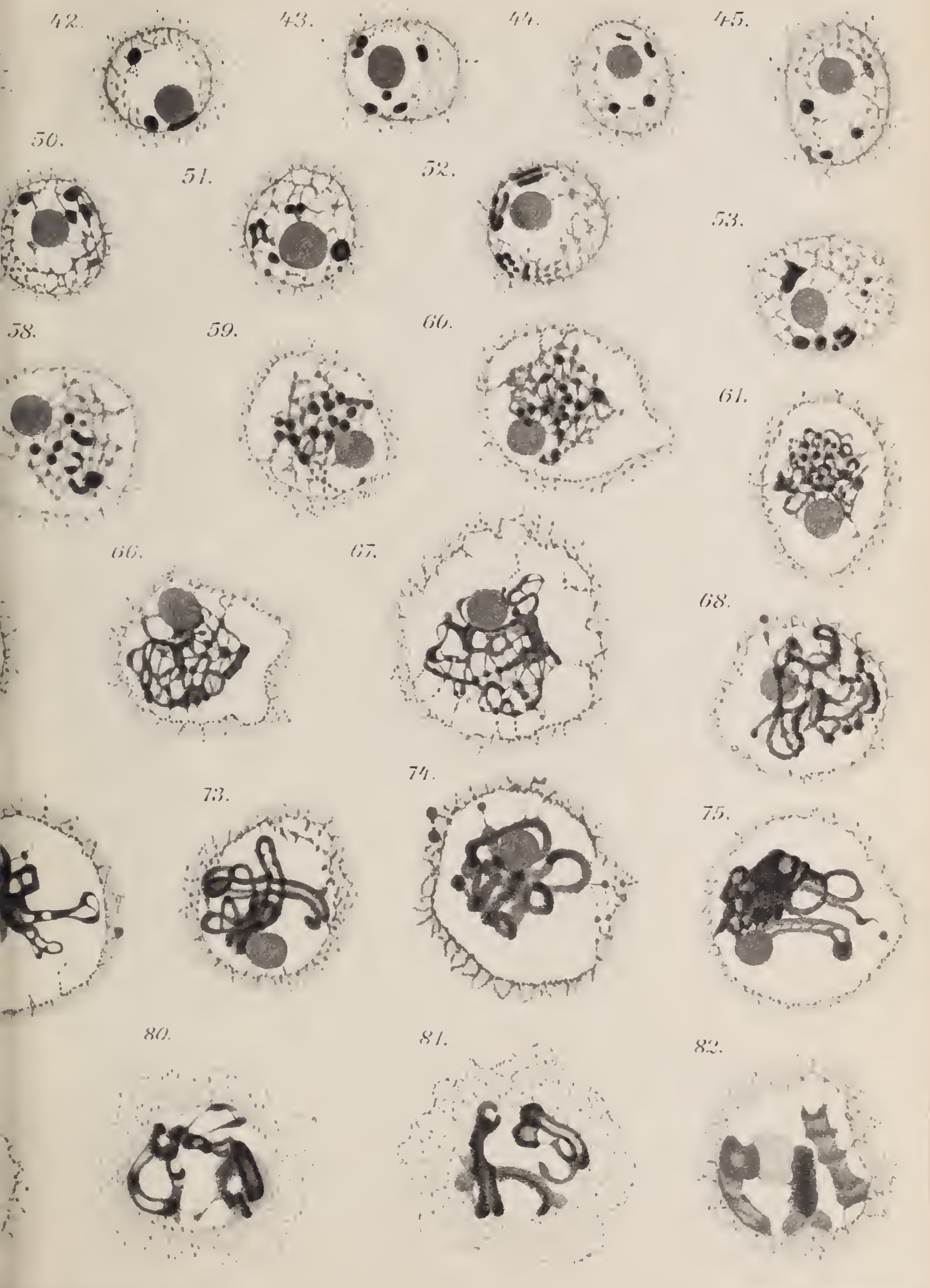


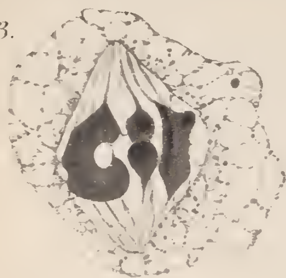
ann in Leipzig und Berlin

Lith Anst v E. A Funke Leipzig



Wilhelm Engl

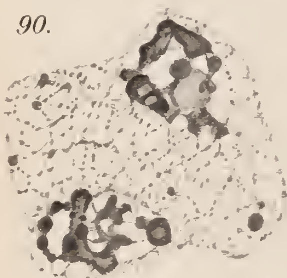

42.
43.
44.
45.
50.
51.
52.
53.
58.
59.
60.
61.
66.
67.
68.
73.
74.
75.
80.
81.
82.

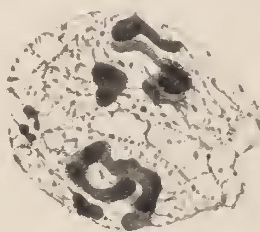

83.

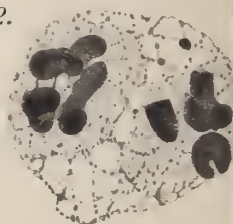

84.


85.

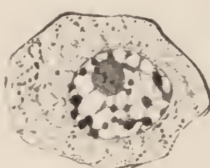

86.

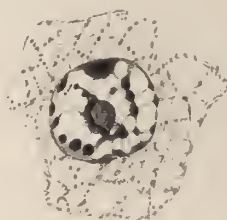

90.


91.


92.

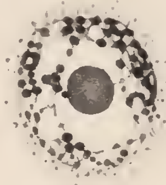

96.

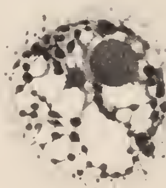

97.

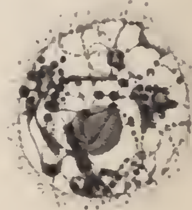

98.

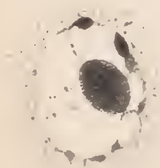

99.


104.

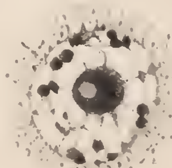

105.

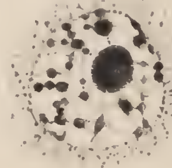

106.


107.


112.

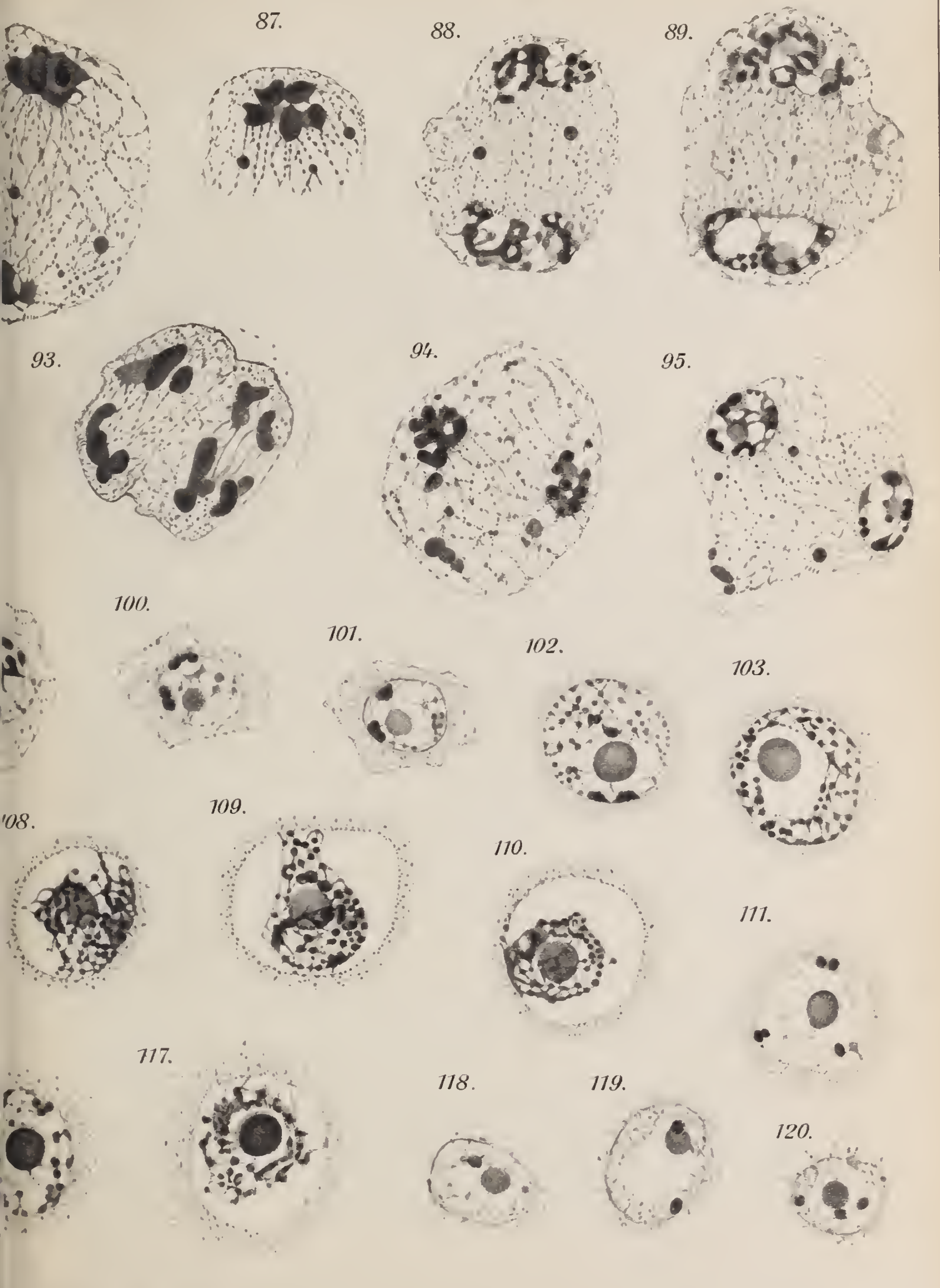

113.


114.


115.


116.

Wilhelm E



Lith Anst v E.A.Funke, Leipzig

Über eigenartige, spiralig strukturierte Spermien mit apyrenem und eupyrenem Kopf bei Insekten.

Von

Professor Dr. med. et phil. **E. Ballowitz,**

Direktor des anatomischen Instituts der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. W.

Mit Tafel XI.

Spiralig strukturierte Spermien mit korkzieherartigem Kopf werden bei den Tieren in großer Verbreitung angetroffen, wohl aus dem Grunde, weil die Bohrerform besonders geeignet ist, das Eindringen des Samenkörpers in das Ei zu erleichtern. So besitzen unter den Wirbellosen z. B. die Spermien vieler Mollusken einen in Windungen gedrehten Kopf und oft auch eine spiralig strukturierte Geißel. Hierher gehören auch die merkwürdigen Samenkörper der Ostracoden.

Unter den Wirbeltieren finden sie sich bei den Selachiern[1]), bei den Amphibiengattungen *Pelobates*[2]) und *Discoglossus*[3]) und vor allem bei den Singvögeln[4]). Bei den letzteren gleicht der Kopf dem Modell eines Tiefbohrers und kann als ein förmliches Wunderwerk mikroskopischer Feintechnik bezeichnet werden. Aber auch um die Geißel bis gegen ihr Endstück hin ist an diesen Spermien ein Spiralfaden in zahlreichen Windungen gelegt.

---

1) Vgl. E. Ballowitz, Untersuchungen über die Struktur der Spermatozoen. Teil III. Fische, Amphibien und Reptilien. Archiv für mikroskopische Anatomie. Bd. XXXVI. Taf. XI, Fig. 1.

2) E. Ballowitz, l. c. Taf. XI, Fig. 54.

3) E. Ballowitz, Die merkwürdigen, $2^1/_4$ mm langen Spermien des Batrachiers *Discoglossus pictus* Otth. Archiv f. mikroskopische Anatomie, Bd. LXIII, Taf. XVI.

4) E. Ballowitz, Untersuchungen über die Struktur der Spermatozoen, zugleich ein Beitrag zur Lehre vom feineren Bau der kontraktilen Elemente. Teil I. Die Spermatozoen der Vögel. Archiv f. mikroskopische Anatomie. Bd. XXXII.

Zu erwähnen sind hier auch die Spiralbildungen, welche im Verbindungsstück und bisweilen auch im Hauptstück der Geißel bei Reptilien, bei den nicht zu den Passeres gehörenden Vögeln und bei vielen Mammalien[1]) in weiter Verbreitung vorkommen.

Von den Insekten sind spiralig strukturierte Samenkörper bisher noch nicht bekannt geworden; nur G. Retzius[2]) hat kürzlich von einer Libellula Spermien abgebildet, an deren Geißel sich eine Spiralfaser um eine etwas dickere Hauptfaser in mehreren Windungen herumlegt; es können sich hier aber auch die beiden Fasern gegenseitig um einander winden. Wie ich bei meinen früheren Untersuchungen[3]) feststellte, setzt sich die Geißel bei den Insekten ganz allgemein aus drei oder mehr parallel nebeneinander angehefteten Fasern zusammen. Bei vielen Coleopteren bildet die eine davon eine unbewegliche Stützfaser, während die andern Fasern sich zu einem in zierliche Krausen umgefalteten Flimmersaum zusammenfügen, welcher einseitig an der Stützfaser angeheftet ist. Die kontraktilen Fasern bestehen aus feinsten Elementarfibrillen, welche gleichfalls parallel neben einander liegen und durch geringe Kittsubstanz mit einander verbunden sind. Nur an den Spermien ohne Stützfaser kommt eine stärkere spiralige Einbiegung des Gesamtspermiums zur Beobachtung, wie sie auch die Samenkörper andrer Tiere, z. B. die in Bewegung befindlichen Spermien der urodelen Amphibien zeigen können. Eine eigentliche spiralige Struktur fehlt aber auch, soweit bekannt, den Insektenspermien ohne Stützfaser.

Auch der Kopf der Insektenspermien, von den abweichenden, von mir beschriebenen Kopfformen bei *Dyticus*, *Hydaticus*, *Colymbetes*, *Calathus* u. a. abgesehen, besitzt nur die Form einer Nadel, die höchstens die Andeutung einer langen, einfachen Spiralwindung zeigt.

Bei meinen fortgesetzten Spermienstudien fand ich nun auch bei Insekten Spiralstrukturen auf. In Folgendem will ich zunächst meine

---

[1]) Vgl. E. Ballowitz, Weitere Beobachtungen über den feineren Bau der Säugetierspermatozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LII. 1891.

[2]) G. Retzius, Biologische Untersuchungen. Neue Folge. Bd. XIV. Taf. XXI. 1909. Vgl. auch die übrigen spermatologischen Arbeiten von G. Retzius in dessen Biologischen Untersuchungen. Neue Folge. Bd. XI, XII, XIII, XV, XVI und XVII.

[3]) Vgl. E. Ballowitz, Untersuchungen über die Struktur der Spermatozoen, zugleich ein Beitrag zur Lehre vom feineren Bau der kontraktilen Elemente. Die Spermatozoen der Insekten. I. Coleopteren. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. L.

Derselbe. Die Doppelspermatozoen der Dyticiden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LX. Vgl. auch: Internationale Monatsschrift für Anatomie und Physiologie. Bd. XI. Hft. 5. 1894.

bei einem Neuropter, der sogenannten »Skorpionsfliege«, *Panorpa communis L.*, erhaltenen Befunde beschreiben, welche umso mehr Interesse beanspruchen dürften, als ich hier zwei differente Spermienformen, die eine mit apyrenem[1]), die andre mit eupyrenem[1]) Kopf antraf.

Ich zergliederte etwa 25 frisch gefangene Exemplare von *Panorpa*, welche zum Teil Männchen, zum Teil Weibchen waren. Die Hoden der Männchen und das Receptaculum seminis der Weibchen wurden in physiologischer (0,75%) Kochsalzlösung zerzupft, und das so gewonnene Sperma meist durch Einwirkung von Osmiumsäuredämpfen fixiert. Ein Teil des Materials wurde sodann mit Gentianaviolett oder Rosanilin gefärbt und darauf feucht, meist nach Zusatz einer konzentrierten Lösung von Kali aceticum, untersucht. Den andern Teil verarbeitete ich zu Deckglas-Trockenpräparaten, welche teils mit Gentianaviolett, teils mit Alaunkarmin tingiert und in Kanadabalsam eingeschlossen wurden.

Die Samenkörper von *Panorpa* sind außerordentlich lang und bilden relativ dicke, in großen Windungen verlaufende Fäden. Sie lassen sich daher nur schlecht isolieren. In den Zupfpräparaten reifer Hoden erhält man sehr lange, gewundene Bündel von Spermien, die zum Teil in ihre Elemente zerfallen. Der Inhalt des Receptaculums bildet eine anscheinend verfilzte Fasermasse. Es ist mir daher trotz aller Bemühungen auch nicht geglückt, ein einzelnes Spermium in ganzer Länge völlig zu isolieren, so daß ich die Länge der Fäden nicht feststellen konnte. Jedenfalls ist sie sehr beträchtlich und beläuft sich auf mehrere, wenn nicht auf viele Millimeter. Die Fadenstücke, welche frei hervorragten und sich daher isoliert gut verfolgen ließen, zeigten ein Ausmaß von 1,3—2,7 mm; indessen steckte der wohl noch beträchtliche Schwanzteil in dem Fadenknäuel und war hier nicht weiter abgrenzbar, sodaß das ganze Spermium wohl noch wesentlich länger sein dürfte.

Eine Bewegung habe ich in den frischen Zupfpräparaten nicht gesehen.

In den Präparaten fällt nun an vielen Fäden sofort das eigenartige Kopfende der von mir für apyren zu haltenden Spermien auf. Fig. 1 der Tafel zeigt es bei schwacher Vergrößerung. Man unterscheidet an ihm zwei differente Abschnitte. Der vordere, kürzere Abschnitt ist etwas dicker, weniger gebogen und läuft in eine sehr feine Endspitze aus. Daran schließt sich nach hinten hin eine längere, sehr regelmäßig gebogene

---

[1]) Die Bezeichnungen »apyren«, »oligopyren«, »eupyren« sind von Fr. Meves auf den Vorschlag Waldeyers eingeführt worden. Siehe Fr. Meves, Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung, nach Beobachtungen an *Paludina* und *Pygaera*. Archiv f. mikr. Anat. und Entwicklungsgesch. Bd. LXI. Seite 3. 1903.

Spirale an, welche hinten allmählich in den mehr gerade verlaufenden Faden übergeht.

Die Fig. 3—10 führen diese beiden Abschnitte bei starker Immersions-Vergrößerung (Zeiss, homogene Immersion 2 mm und 1,5 mm, Kompens. Ocular 12) nach verschiedener Behandlung vor und lassen weitere bemerkenswerte Einzelheiten erkennen. Fig. 3 und 4 entstammen Präparaten, welche nach Fixierung durch Osmiumdämpfe und Tinktion mit Gentianaviolett ganz frisch in Wasser untersucht wurden. An dem vorderen Abschnitt erschienen alsdann zwei sehr zarte, schmale, membran- oder saumartige, längliche Anhänge, welche nur schwach, aber doch deutlich gefärbt waren. Beide standen sich ziemlich gegenüber und waren ungleich lang, der eine auch etwas breiter, noch einmal oder etwas über einmal so lang als der andre; das hintere Ende des längeren Saumes ließ sich oft nicht deutlich abgrenzen. Diese beiden Anhänge sind sehr vergänglich. Nach längerem Liegen unter dem Deckglase (Fig. 5, 7, 8 und 9) werden sie undeutlich und verschwinden ganz. In frischen ungefärbten Präparaten sind sie nur schwer erkennbar, in den tingierten Deckglas-Trockenpräparaten (Fig. 4) war nichts mehr von ihnen zu sehen.

Der Abschnitt, welchem die Saumanhänge ansitzen, ist länglich, schmal und färbt sich intensiv mit Gentianaviolett. Nach hinten geht er am intakten Spermium scheinbar kontinuierlich in die Spirale über; die Übergangsstelle erscheint leicht verdickt. Des öfteren habe ich aber in den Präparaten eine Ablösung des vorderen Abschnittes von der Spirale angetroffen, wie die Fig. 5, 7 und 8 illustrieren. In Fig. 8 hat sich der Abschnitt ganz abgetrennt, in Fig. 5 und 7 sitzt er mit seinem äußersten Ende noch der Spirale an. Bei der Ablösung wird deutlich, daß sich der Abschnitt nach hinten hin allmählich verjüngt und in eine feine Spitze ausläuft. Dieser zugeschärfte Teil legt sich an das gleichfalls zugespitzte Ende der Spirale an und verbindet sich mit ihm. An der Vereinigungsstelle macht sich bei den ungefärbten oder nur schwach tingierten Spermien (Fig. 9) eine schmale, helle, nadelöhrartige Stelle bemerkbar (Fig. 9).

Auch das andre Ende des vorderen Abschnittes ist fein zugeschärft und zwar noch mehr als das hintere. Es läuft in eine längere, äußerst feine Spitze aus, welche sehr oft gerade gestreckt ist (Fig. 3, 5, 7 und 8). Häufig ist sie aber auch gebogen (Fig. 4) oder deutlich spiralig gedreht, wie in den Fig. 6, 9 und 10. Die Umbiegung der Spitze gegen den Hauptteil erscheint dabei bisweilen noch stärker, als in Fig. 10 dargestellt. Auch an den mehr grade verlaufenden Spitzen macht ihre Basis oft den Eindruck, als ob sie leicht torquiert wäre. Das gleiche gilt von dem dicken

Hauptteil des vorderen Abschnittes, der oft leicht spiralig gedreht aussieht (Fig. 6 und 9).

Nach allem macht dieser vordere Abschnitt also ganz den Eindruck eines Spermienkopfes.

Die Spirale, welcher der Kopf vorne ansitzt, ist sehr eigenartig. Wie schon erwähnt, ist ihr vorderes Ende dort, wo es sich mit dem Kopf verbindet, fein zugeschärft (Fig. 5, 7, 8). Die Spiralwindungen sind sehr zierlich und regelmäßig. Man zählt konstant fünf bis sechs Windungen, meist sind es sechs. Die hinteren Windungen sind etwas schmäler als die vorderen, die sechste vermittelt den Übergang zu der gerade gestreckten Geißel. An der Übergangsstelle wird erkennbar, daß die Geißel merklich dicker ist als die Spirale. Auch färbt sich die letztere nicht oder nur sehr schwach, während die Geißel bei Färbung mit Gentianaviolett eine intensive Tinktion annimmt. Im übrigen macht die meist gerade gestreckte Spirale einen ziemlich starren Eindruck und ist nur selten in einer größeren Biegung umgebogen.

In den tingierten Deckglas-Trockenpräparaten hatte es oft den Anschein, daß die Spirale sich aus zwei Fäden zusammensetzt (Fig. 6); doch habe ich eine völlige Trennung der Fäden auf größeren Strecken an ihr nicht gesehen.

An der Übergangsstelle der Spirale in die Geißel wurden Differenzierungen, etwa Endknöpfchen oder dgl., von mir nicht wahrgenommen. Die Spirale geht hier vielmehr kontinuierlich in die dickere Geißel über und stellt wohl einen modifizierten Teil der Geißel dar, vielleicht vergleichbar einem Verbindungsstück. Dafür spricht auch, daß die Befestigung der Spirale an der Geißel eine sehr innige zu sein scheint; nur in einigen wenigen Fällen habe ich in der Nähe der Übergangsstelle abgebrochene Spiralen mit dem noch daransitzenden Kopf angetroffen, aber auch bei diesem waren Differenzierungen an dem Bruchende nicht vorhanden.

Die an die Spirale sich anschließende, wie oben bemerkt, außerordentlich lange Geißel, ist relativ dick und scheint diese Dicke in ihrer ganzen Länge gleichmäßig zu bewahren. Da es mir nicht gelingen wollte, ein intaktes Spermium in seiner ganzen, nach Millimetern zählenden Länge zu isolieren, kann ich nicht mit Bestimmtheit aussagen, wie das hintere Ende des Spermiums aussieht. Ich traf aber, besonders in den Zupfpräparaten des Hodens, wiederholt fein auslaufende, bisweilen etwas umgebogene Geißelfäden ohne sonstige Differenzierungen an, die ich für das hintere Ende dieser Spermien halten möchte.

An diesen langen Geißelfäden wird nun bei Untersuchung mit Immersionsvergrößerung ein Spiralfaden sehr auffällig, welcher in vielen regel-

mäßigen Windungen die Geißel umwindet, wie die Figuren 4—12 dartun. Fig. 12*a* zeigt ein Geißelstück bei hoher Einstellung mit den regelmäßigen Windungen des Fadens an der oberen Seite der Geißel. In Fig. 12*b* ist dasselbe Geißelstück bei tiefer Einstellung gezeichnet, so daß die in entgegengesetzter Richtung verlaufenden Windungen des Spiralfadens an der unteren Seite der Geißel sichtbar sind. Durch Bewegung mit der Mikrometerschraube lassen sich diese oberen und unteren Windungsstücke des Fadens mit einander in Zusammenhang bringen, so daß kein Zweifel bestehen kann, daß dieser Faden in Spiralwindungen sich um die Geißel herumlegt und nicht einseitig angeheftet ist, wie sonst bei den Insektenspermien. Diese Feststellungen lassen sich sowohl an dem ungefärbten wie an dem intensiv tingierten, feuchtliegenden Präparat machen. Der Spiralfaden ist sehr dünn und fein und liegt der Geißel dicht an. Nur seltener wird ein etwas breiterer, heller Raum zwischen ihm und der Geißel erkennbar, wie in Fig. 11 dargestellt.

Dieser Spiralfaden löst sich bisweilen auf kürzere Strecken ab, bewahrt aber seine spiralige Umwicklung, falls er bei dem Ablösungsprozeß nicht zerrissen ist. So sehen wir in Fig. 10, daß er sich von der Geißel abgehoben hat und eine kleine, frei vorragende Schleife bildet. Diese Ablösung ist gerade an der Übergangsstelle in die oben beschriebene Spirale erfolgt, so daß man den Eindruck gewinnt, daß der feine Spiralfaden sich auch auf die Spirale erstreckt. Ist der Spiralfaden eingerissen, so kann er sich auch auf größere Strecken ablösen und bewahrt dann nur an einem Ende den Zusammenhang mit der Geißel. Alsdann kann er auch ganz abreißen. In den mit Gentianaviolett tingierten Zupfpräparaten des Inhalts des Receptaculums trifft man zahlreiche isolierte, längere, feinere Fäden an, welche jedenfalls abgelöste Stücke des Spiralfadens darstellen.

Wie ich in meinen früheren Arbeiten nachgewiesen habe, macerieren in dem mit Samen erfüllten Receptaculum der Insekten immer mehrere Spermien, die sich in ihre fädigen Bestandteile auflösen. Auch bei *Panorpa* erhielt ich Beweise, daß die Geißel noch eine weitere, und zwar fädige Struktur besitzt. Schon bei der Untersuchung der intakten Geißel will es bei genauester Einstellung mit stärkster Vergrößerung bisweilen scheinen, als ob zwischen den Windungen des Spiralfadens noch eine weitere, anscheinend spiralige Struktur, vielleicht noch eines andern Fadens, vorliegt, auch an den Stellen, an welchen sich der Spiralfaden bereits abgelöst hat. Doch sind diese Dinge so subtil, daß man kein bestimmtes Urteil gewinnt und es auch nicht möglich ist, diese Eindrücke durch Zeichnung genau wiederzugeben. An den macerierten Bruchstücken war aber ein Zerfall in zwei Fäden und in feinste Fibrillen festzustellen. Auch

in den Präparaten aus dem Hoden machte ich wiederholt diese Beobachtung.

Es kann daher keinem Zweifel unterliegen, daß die Geißel einen fädigen und fibrillären Aufbau besitzt. Im einzelnen bin ich diesem feineren Bau der Geißel bei *Panorpa* aber weiter nicht nachgegangen, da das Material nicht ausreichte, um feinere Macerationen anzustellen.

Erwähnen muß ich noch, daß ich an den Enden von Geißeln oft ein deutliches, intensiv gefärbtes Endknöpfchen antraf, wie es in Fig. 11 dargestellt ist. Auch das unmittelbar daran anstoßende Ende der Geißel konnte eine intensive Tinktion mit Gentianaviolett annehmen. Ich werde auf diese Beobachtung alsbald noch zurückkommen.

Um an diesen eigenartigen Samenkörpern festzustellen, was der chromatinhaltige Kopf wäre, wandte ich spezifische Chromatinfärbungen an. Mit der Biondischen Lösung hatte ich keinen Erfolg. Auch bei Anwendung gut färbender wässeriger Alaunkarmin-Lösungen, welche sonst sehr zuverlässig das Chromatin tingieren, erhielt ich zu meiner größten Überraschung kein Resultat. Ich stellte sowohl von Hodenzupfpräparaten wie von dem Inhalt des Receptaculums nach Fixierung mit Osmiumdämpfen Deckglas-Trockenpräparate her, welche ich längere Zeit mit Alaunkarmin färbte, in destilliertem Wasser abspülte und in Kanadabalsam einschloß. Alle die oben beschriebenen Bildungen, die sich in diesen Deckglas-Trockenpräparaten sehr gut erhalten hatten und deutlich, wenn auch ungefärbt, bei genauer Einstellung hervortraten, hatten mit Alaunkarmin nicht die geringste Färbung angenommen, der oben beschriebene Kopf und die Spirale waren völlig ungefärbt geblieben. Ich muß daher nach meinen Befunden annehmen, daß der Kopf und die Spirale der oben beschriebenen Spermien des Chromatins entbehren, und es sich hier um eigenartige apyrene Spermien handelt.

In diesen mit Alaunkarmin gefärbten Deckglas-Trockenpräparaten entdeckte ich nun noch andre Spermienköpfe, welche gleich gestalteten Geißeln aufsaßen, aber ohne die oben beschriebene Spirale (Fig. 2 und 13—16). Diese Köpfe sind schmal, lang und nadelförmig. Nach vorne laufen sie allmählich in eine feine Spitze aus, hinten endigen sie an der Verbindungsstelle mit der Geißel quer abgestutzt. Sie sind meist etwas unregelmäßig hin und her gebogen (Fig. 2 und 13—15), vielleicht auch spiralig gedreht, seltener mehr gerade gestreckt (Fig. 16). Die Färbung dieser Köpfe mit Alaunkarmin ist sehr deutlich und charakteristisch braunrot, so daß sie dadurch in den Deckglas-Trockenpräparaten aus dem Receptaculum sofort auffallen, weil sie die einzigen Bestandteile sind, welche sich in diesen Alaunkarmin-Präparaten gefärbt haben. Sie treten daher auch

in den dicker ausgestrichenen Spermienlagen in den Deckglas-Trockenpräparaten deutlich hervor, während die apyrenen Köpfe in solchen Stellen nicht zu unterscheiden sind. Die Unterschiede werden besonders auffällig, wenn die beiden Kopfarten an dünn ausgestrichenen Stellen dicht neben einander liegen, was mehrfach beobachtet wurde; die apyrenen Köpfe ließen in den Alaunkarmin-Präparaten stets jede Färbung vermissen, obwohl sie wesentlich dicker sind, als die färbbaren.

Die mit Alaunkarmin tingiblen Spermien müssen daher als eupyren bezeichnet werden. Fig. 2 der Tafel illustriert den vorderen Teil eines solchen eupyrenen Samenkörpers bei der gleichen schwächeren Vergrößerung, bei welcher das apyrene der Fig. 1 daneben gezeichnet ist. Diese Figur zeigt die auffälligen Unterschiede der beiden Kopfformen, ebenso wie die Fig. 13—16 bei stärkerer Vergrößerung. Man stellt an ihnen fest, daß der eupyrene Kopf wesentlich länger, dafür aber dünner ist, als der apyrene Kopf; der mit Alaunkarmin tingierte Kopf bleibt aber hinter der Gesamtlänge des apyrenen Kopfes und der Spirale wesentlich zurück. Daß die Spirale den eupyrenen Spermien völlig fehlt und auch nicht einmal in Andeutungen vorhanden ist, wurde oben schon erwähnt und geht auch aus den Fig. 2 und 13—16 hervor.

Wie ich oben bemerkt habe, ist es mir bei der enormen Länge der *Panorpa*-Spermien nicht gelungen, ein einzelnes Spermium in ganzer Länge hier völlig zu isolieren. Ich kann daher auch bei den eupyrenen Spermien nicht aussagen, wie ihr hinteres Ende aussieht. Die Möglichkeit dürfte aber doch wohl sicher auszuschließen sein, daß die beiden Bildungen der Fig. 1 und 2 die beiden Enden eines und desselben Spermiums seien. Diese Möglichkeit zugegeben, müßte der chromatinhaltige Kopf der Fig. 2 das Vorderende, die apyrene Bildung der Fig. 1 aber das Hinterende des Spermiums darstellen. Eine solche Differenzierung des Hinterendes eines Spermiums ist bis jetzt aber noch bei keinem Fadenspermium irgend eines Tieres beobachtet worden, vielmehr läuft das Hinterende der Geißel aller Fadenspermien stets fein fadenförmig aus ohne weitere besondre Bildungen.

Auch der Einwand, daß die mit Chromatin-Kopf versehenen Spermien vielleicht eine unreife Vorstufe der apyrenen, durch die Spirale ausgezeichneten Samenkörper sein könnten, kann nicht gemacht werden, denn ich habe die chromatinhaltigen Spermien nicht allein im Hoden, sondern auch im Inhalt des Receptaculums zahlreich angetroffen. Fig. 16 stellt den fadenförmigen Kopf eines eupyrenen Spermiums aus einem Zupfpräparat des Hodens dar. Der Kopf ist hier mit Gentianaviolett intensiv gefärbt, im übrigen aber von dem gleichen Aussehen und der gleichen

Größe wie an den eupyrenen Spermien des Receptaculums; nur an seinem vorderen Ende setzt sich eine sehr feine und kurze, heller gefärbte Spitze deutlich ab, die in den Alaunkarmin-Präparaten aus dem Receptaculum nicht zu erkennen ist. Die Fig. 13, 14 und 15 stammen aus mit Alaunkarmin gefärbten Deckglastrockenpräparaten des Inhaltes des Receptaculums, worin die eupyrenen Spermien ziemlich häufig sind; indessen schienen mir die apyrenen Samenkörper darin wohl ebenso häufig zu sein; das Zahlenverhältnis beider Formen ist schwer abzuschätzen. Es ist wohl kaum anzunehmen, daß unreife Bildungsstadien, wenn sie von der definitiven Form noch so verschieden sind, sich in dem Receptaculum seminis so zahlreich und so gut erhalten vorfinden würden.

Nach Obigem bleibt daher nur die Annahme übrig, daß die beiden Spermienenden die Köpfe zweier differenter Spermienformen sind, einer apyrenen und einer eupyrenen Form. Von großem Interesse würde sein, die Entwicklung dieser beiden differenten Spermienformen näher kennen zu lernen.

Das Vorkommen zweier nach ihrem Chromatingehalt verschiedener Arten von Spermien bei demselben Tier ist bekanntlich bei zahlreichen Mollusken, insbesondere den Prosobranchiern, schon längst festgestellt und in neuerer Zeit mehrfach untersucht worden. v. Siebold entdeckte bereits im Jahre 1837 diese merkwürdige Tatsache bei *Paludina vivipara* und bezeichnete die beiden, hier außerordentlich verschiedenen Formen als »haarförmige« und »wurmförmige« Samenkörper. Kürzlich ist die Literatur hierüber von Meves (l. c.) und G. Retzius (l. c.) eingehend berücksichtigt und zusammengestellt worden, so daß ich mich darauf beschränken kann, auf diese beiden Autoren zu verweisen.

In der zitierten Arbeit berichtet Meves[1]) ausführlich, daß er auch bei einer Insektengruppe und zwar den Spinnern unter den Lepidopteren, eupyrene und apyrene Spermien nebeneinander im Hoden angetroffen hat; von der Spinnerart *Pygaera bucephala* beschreibt er diese dimorphen Spermien eingehender und bildet sie auf Taf. VII seiner Abhandlung (l. c.) auch ab. Diesen Befunden von Meves reihen sich meine Beobachtungen bei *Panorpa*, welche zu einer ganz andren Insektenordnung, den Neuropteren, gehört, an, so daß wahrscheinlich wird, daß dieser eigenartige Spermiendimorphismus bei den Insekten noch weitere Verbreitung hat.

[1]) Fr. Meves, Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung, nach Beobachtungen an *Paludina* und *Pygaera*. Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsgeschichte. Bd. LXI. Seite 62 und folgende. 1903.

Tafelerklärung.

Vorbemerkung.

Alle Figuren der Tafel stammen aus Zupfpräparaten, welche aus dem Hoden bzw. dem Receptaculum seminis der »Skorpionsfliege«, *Panorpa communis* L., gewonnen wurden. Mit Ausnahme von Fig. 1 und 2 sind alle Figuren bei ziemlich gleicher, 1500 bis 2000facher Immersionsvergrößerung gezeichnet worden. (Zeiss homogene Immersion 2 mm und 1,5 mm, Kompensations-Ocular Nr. 12.)

Tafel XI.

Fig. 1. Kopf und vorderes Geißelstück eines apyrenen Spermiums aus dem Receptaculum seminis, von einem mit Alaunkarmin behandelten Präparat. Bei x ist die Geißel abgeschnitten zu denken. An dem Kopfende ist nicht die geringste Färbung wahrzunehmen. Die Abbildung ist in demselben Größenverhältnis gezeichnet, wie die Figuren meiner früheren Arbeiten über Insektenspermien; ein jeder Teilstrich des Winkelschen Ocular-Mikrometers Nr. 2, mit welchem die Objekte bei Winkel, homogene Immersion 1/24 (Tubus nicht ausgezogen) gemessen wurden, und bei welchem dann jeder Teilstrich = 0,001 mm wirklicher Objektgröße beträgt, wurde in der Zeichnung gleich 1 mm gesetzt.

Fig. 2. Kopf und vorderer Geißelteil eines eupyrenen Spermiums aus dem Receptaculum seminis, von einem mit Alauncarmin behandelten Präparat; bei x ist die Geißel abgeschnitten zu denken. Der chromatinhaltige Kopf ist deutlich gefärbt. Die Vergrößerung ist die gleiche, wie in Fig. 1.

Fig. 3. Kopf und vorderes Geißelende eines apyrenen Spermiums. Die zarten, saumartigen Kopfanhänge sind deutlich. Das vordere Geißelende ist bei tiefer Einstellung gezeichnet. Hodenpräparat, physiologische Kochsalzlösung, Fixierung durch Osmiumsäuredämpfe, Färbung mit Gentianaviolett, frisch und feucht untersucht.

Fig. 4. Wie in Fig. 3. Das vordere Geißelende ist bei hoher Einstellung gezeichnet. Zupfpräparat aus dem Receptaculum.

Fig. 5. Kopf und vorderes Geißelende eines apyrenen Spermiums. Der apyrene Kopf hat sich von der Spirale abgelöst; die saumartigen Anhänge sind nicht mehr erhalten, da das mit Gentianaviolett tingierte Präparat schon einige Zeit unter dem Deckglase gelegen hatte.

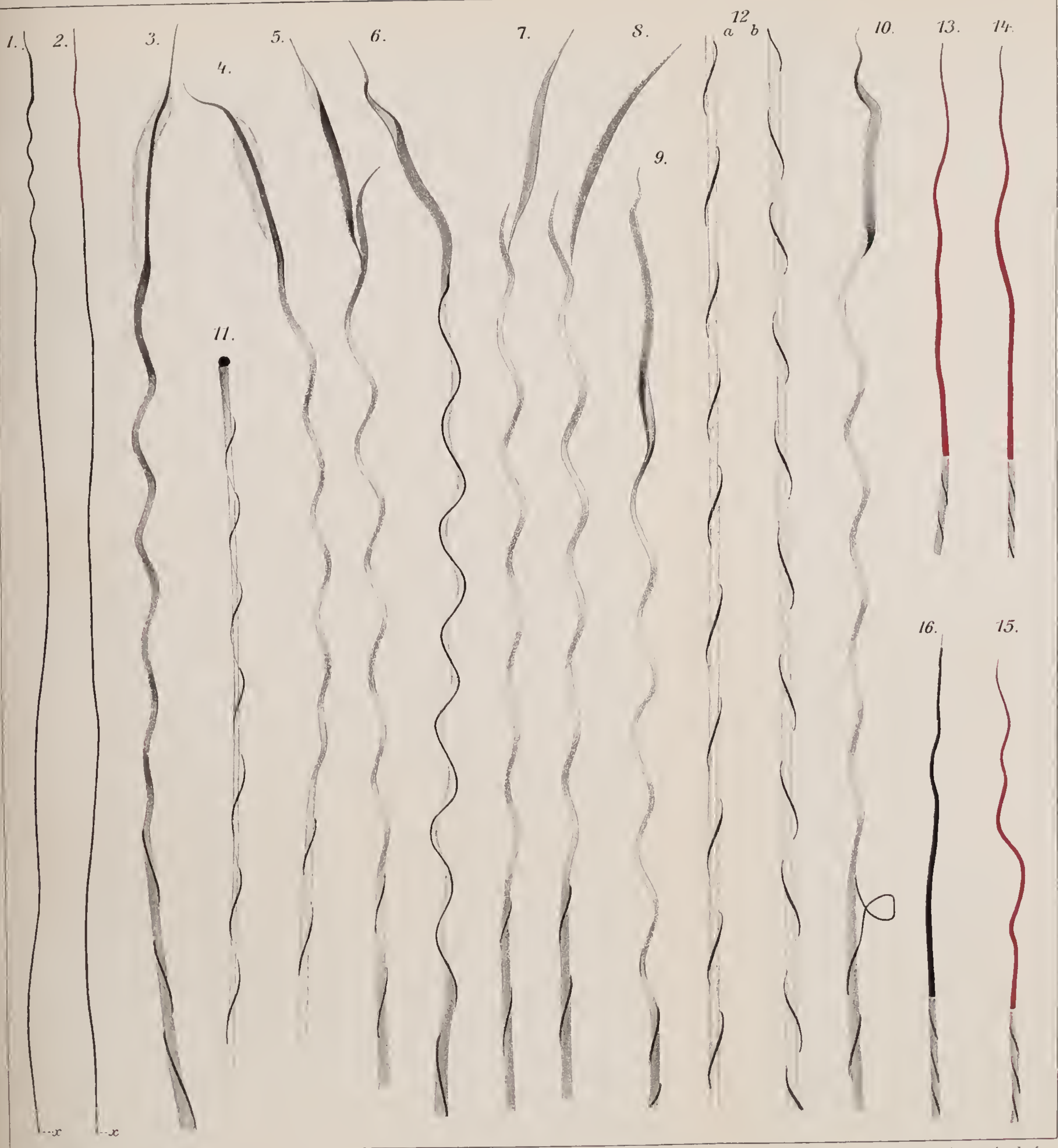
Fig. 6. Kopf und vorderes Geißelende eines apyrenen Spermiums. Die Spirale ist anscheinend in zwei Fäden zerlegt. Aus einem mit Gentianaviolett gefärbten Deckglas-Trockenpräparat aus dem Receptaculum seminis.

Fig. 7. Kopf und vorderes Geißelende eines apyrenen Spermiums. Der apyrene Kopf hat sich bis auf seine hintere Spitze von der Spirale abgelöst. Im übrigen wie Fig. 5.

Fig. 8. Kopf und vorderes Geißelende eines apyrenen Spermiums. Der apyrene Kopf hat sich vollständig von der Spirale abgelöst. Im übrigen wie Fig. 5.

Fig. 9. Kopf und vorderes Geißelende eines apyrenen Spermiums. Die vordere Spitze des apyrenen Kopfes erscheint spiralig gedreht. An der Ansatzstelle des hinteren Kopfendes ist eine helle, schmale, längliche Stelle sichtbar. Aus einem ungefärbten Präparat aus dem Hoden.

Fig. 10. Kopf und vorderes Geißelende eines apyrenen Spermiums. An dem vorderen Geißelende hat sich die feine Spiralfaser in Form einer Öse an einer Stelle abgelöst.



K. Schlick gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Fig. 11. Stück einer Geißel, an deren Ende ein deutliches, mit Gentianaviolett intensiv gefärbtes Knöpfchen sichtbar ist. Die Windungen der feinen Spiralfaser sind sehr deutlich und haben sich von der Hauptfaser ein wenig gelockert, so daß auf der rechten Seite zwischen der Spiralfaser und der Hauptfaser ein schmaler, aber deutlicher heller Abstand sichtbar ist. Aus dem Receptaculum seminis. Physiologische Kochsalzlösung, Osmiumsäuredämpfe, Gentianaviolett.

Fig. 12 *a* und *b*. Dasselbe Stück Geißel, *a* bei hoher Einstellung, *b* bei tiefer Einstellung, um die in einander übergehenden, regelmäßigen Windungen der feinen Spiralfaser zu zeigen. Aus dem Receptaculum seminis, Osmiumsäuredämpfe, Gentianaviolett. Die beiden Abbildungen sind bei ein wenig stärkerer Vergrößerung gezeichnet als die übrigen Figuren.

Fig. 13, 14 und 15. Mit Alaunkarmin deutlich gefärbte, eupyrene Spermiumköpfe mit daran stoßendem Geißelende. Nach Deckglas-Trockenpräparaten aus dem Receptaculum seminis, welche nach Fixierung durch Osmiumsäuredämpfe mit Alaunkarmin gefärbt waren.

Fig. 16. Kopf und anstoßendes Geißelende eines eupyrenen Spermiums aus dem Hoden. Aus dem dunkel gefärbten Kopf ragt vorn eine kurze, sehr feine, blasse Spitze hervor. Färbung mit Gentianaviolett.



Cytologische Studien an Mesostoma ehrenbergi.

Von

Hermann von Voss.

(Aus dem Zoologischen Institut Straßburg i. Els.)

Mit 5 Textfiguren und Tafel XII—XIV.

Die Reifung des Eies.

Vor nunmehr 30 Jahren hat Ant. Schneider (1873) an dem gleichen Objekt, das auch meiner Untersuchung zugrunde liegt, den karyokinetischen Prozeß erstlich in seinem vollen Umfange erkannt und ihn durch Abbildungen aus der Spermatogenese und Ovogenese von *Mesostoma ehrenbergi* illustriert; 10 Jahre später (1883) bringt er in seiner zusammenfassenden Arbeit über »das Ei und seine Befruchtung« weitere Abbildungen dieses ausnehmend günstigen Objekts, dessen »Kerne zufällig so groß und die Zellen so durchsichtig sind, daß schon bei Beobachtung der lebenden Zellen eine große Anzahl von Einzelheiten erkannt werden kann«. Wenn trotzdem lange Zeit hindurch eine genauere cytologische Untersuchung unsres Turbellars unterblieb, so liegt das hauptsächlich wohl an der verhältnismäßigen Seltenheit desselben. Erst im Jahre 1904 hat Bresslau in seiner grundlegenden Arbeit über die Entwicklung der Rhabdocölen auch die cytologische Seite des Problems kurz gestreift und eine ausführlichere Arbeit darüber in Aussicht gestellt; einige Jahre darauf (1909) weist er nochmals auf diese günstige Species hin.

Ich bin daher Herrn Prof. Bresslau zu großem Danke verpflichtet, daß er mir dieses reizvolle Thema zur Bearbeitung überließ und mir in liebenswürdigster Weise ein reiches Material an fixierten Tieren und fertigen Schnitten zur Verfügung stellte; ich konnte es durch eigenes Sammeln im Sommer 1912 noch vervollständigen, da *Mes. ehrenbergi* bei Straßburg reichlich vertreten ist (hinsichtlich seines Vorkommens vgl. Bresslau 1909).

Das Interesse der Cytologen, das in den ersten 10 Jahren unsres Jahrhunderts so stark den Vorgängen der Reifung in den Geschlechtszellen gegolten hatte, wendet sich seit einiger Zeit spezielleren Fällen, namentlich den Hetero-, den Geschlechtschromosomen zu, und man versucht vor allem auch die Ergebnisse zellulärer Forschung und experimenteller Erblichkeitsuntersuchungen in harmonischen Einklang zu bringen. Wenn ich trotzdem in dieser Arbeit auf die Frage der Reduktion der Chromosomen als Hauptthema eingehe, so geschieht es, weil wir noch weit davon entfernt sind, in diesen Dingen klar und eindeutig zu sehen, was sich gerade bei der Lektüre des kritischen Referats von Grégoire (1906, 1910) am meisten in die Augen wirft, einer Arbeit, die nach Möglichkeit alle Ergebnisse vereinheitlichen und in das »hetero-homöotypische Schema« einordnen will. Daß das nicht immer angeht, sondern daß auch andre, als der Grégoiresche Weg, eingeschlagen werden, das hoffe ich an den klaren Verhältnissen von *Mes. ehrenbergi* zeigen zu können.

Dieser ersten »Studie« sollen sich in der Folgezeit andre anreihen, die über die Befruchtung und Furchung des Eies berichten und den Auf- und Abbau der Chromosomen schildern, der durch die Arbeiten von Bonnevie, Vejdowsky, Alverdes u. a. erneutes Interesse gewonnen hat.

Nur wenige Worte über Material und Technik meiner Untersuchungen: die in Flemmings, Zenkers oder Tellyesniczkys Gemisch fixierten Tiere (vgl. Bresslau 1904) wurden entweder mit Boraxkarmin, Hämalaun nach P. Mayer, Ehrlichs Hämatoxylin vorgefärbt oder auf den Schnitten mit Eisenhämatoxylin, Kleinenbergs alkoholischem Hämatoxylin und Safranin behandelt; als entsprechende Plasmafarbstoffe gelangten Bleu de Lyon, Lichtgrün und mit dem besten Erfolge Orange G zur Verwendung. (Zwecks Darstellung der achromatischen Substanzen, der Spindeln, Archoplasmahöfe usw. lasse ich die mit Eisenhämatoxylin gefärbten Schnitte 1—2 Tage lang in einer ganz schwachen, d. h. kaum gelblichen Lösung von Orange G in 95% Alkohol stehen und erhalte bei diesem langsamen Verfahren sehr scharf differenzierte Bilder.) Die Schnittdicke betrug in den meisten Fällen 10 μ, doch wurden zum Studium der Synapsis-Stadien auch 5 und 7,5 μ dicke Schnitte angefertigt.

Der zu behandelnde Stoff gliedert sich in drei Abschnitte:

1. die Vorgänge von den Oogonien bis zur Prophase I,

2. die beiden Reifungsteilungen und

3. ein kritisches Schlußkapitel, in dem ich die theoretischen Folgerungen aus den Beobachtungen ziehe und mich mit den Anschauungen der andern Autoren auseinandersetze; ich möchte jedoch schon hier bemerken, daß ich auf die Literatur nur insoweit eingehe, als sie in un-

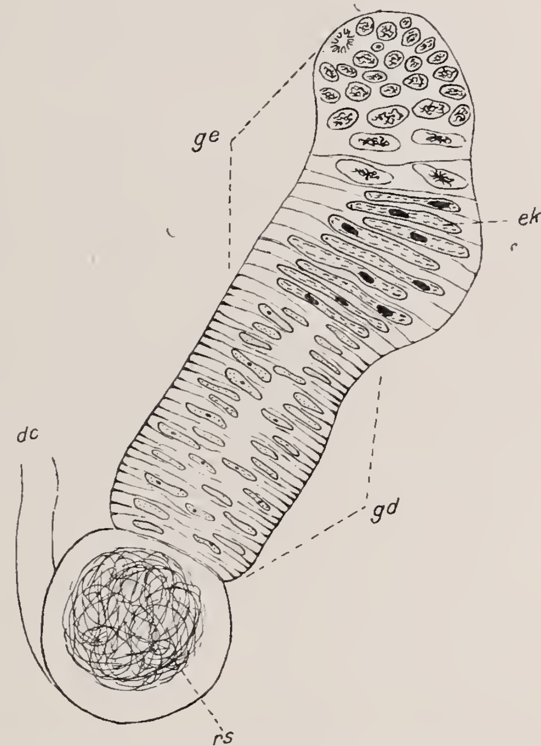
mittelbarem Zusammenhang mit den von mir erörterten Erscheinungen steht; im übrigen muß ich auf die ausführlichen Referate von HÄCKER (1907), GRÉGOIRE (1910) und LUNDEGÅRDH (1912) verweisen.

I. Von den Oogonien bis zur Prophase I.

1. Die Oogonien.

Der Bau des Keimstockes[1]) der Mesostomatini (LUTHER) hat mehrfach eine genauere Beschreibung erfahren (SCHNEIDER 1873, v. GRAFF 1882, LUTHER 1904), doch gehen die Anschauungen der Autoren in manchen wesentlichen Punkten auseinander. Unklar ist es vor allem, ob das proximale Ende, das »Keimlager«, ein Syncytium darstellt oder ob uns auch hier schon, wie im distalen, an den Ovidukt angrenzenden Teil, getrennte Zellen vorliegen. Während SCHNEIDER und VON GRAFF von einer ungeteilten Plasmamasse sprechen, in die die runden kleinen Oogonienkerne eingebettet liegen, ist das Plasma nach LUTHER zum Teil schon um die Kerne abgegrenzt, sodaß es um sie eine, wenn auch nur dünne Hülle bildet; leider sind die zugehörigen Abbildungen LUTHERS so klein, daß ich aus ihnen nichts entnehmen

Textfig. I.



ge, Ovarium (Germarium); *gd*, Ovidukt (Germidukt); *ek*, Eikern; *rs*, Receptaculum seminis. Nach STEINMANN-BRESSLAU.

[1]) Der »Keimstock« von *Mes. ehrenbergi* ist nach v. GRAFF eigentlich als »Germarium« zu bezeichnen; trotzdem behalte ich im folgenden den Namen »Ovarium« bei, um die Einheitlichkeit des Ausdrucks mit andern Arbeiten cytologischer Natur zu wahren.

konnte, was die Richtigkeit seiner Angaben bewiese; und aus demselben Grunde scheinen mir die Ausführungen von A. Weiss (1910) unsicher zu sein, die in manchen Fällen Zellgrenzen im Keimstock von *Mesostoma canum* und *michaelseni* gefunden hat: auch Weiss gibt keine beweisenden Figuren.

Ich bin dieser Frage, die entschieden eine prinzipielle Bedeutung hat (vgl. S. 180—182), bei *Mes. ehrenbergi* aufmerksam nachgegangen und habe gefunden, daß die alte Anschauung von Schneider-v. Graff (die letzter übrigens auch in Bronns Kl. u. Ordn., Bd. IV, 1904—1908 vertritt) vollkommen zu Recht besteht: an gut fixiertem Material lassen sich in diesem proximalen Teil des Ovariums niemals Zellgrenzen wahrnehmen, die Kerne liegen vielmehr häufig so dicht beieinander, daß sich ihre Membranen direkt berühren (Fig. 1). Erst dort, wo die bekannte geldrollenförmige Anordnung der Keimzellen beginnt, also in der Region der synaptänen Kerne, treten, indem sich das Plasma um die Nuclei abgrenzt, schwach angedeutete, schattenhafte Zellgrenzen auf (vgl. Textfig. 1): proximal von dieser Zone etwa zu beobachtende Spalträume oder Lücken im Plasma habe ich in einigen Fällen sicher auf die schlechte Fixierung zurückführen können und stehe daher nicht an, diese Erfahrung zu verallgemeinern.

Es liegt uns also im blinden Ende des Keimstocks ein Syncytium vor, in dessen spärliches Plasma eine Anzahl Kerne eingebettet erscheint, die in den meisten Fällen sich im sogenannten Ruhestadium befinden; einen solchen Ruhekern habe ich in Fig. 2a stärker vergrößert abgebildet: selten von rundlicher, meist von ovaler Form mißt er in der Länge 10 bis 16 μ und 8—10 μ in der Breite, kann aber beträchtlich in der Größe schwanken, was beim Vergleich von Fig. 2a mit 2b deutlich hervortritt; eine zarte Kernmembran umschließt ihn. Er unterscheidet sich von einem somatischen Kern sofort durch seinen größeren Chromatinreichtum und wird darin nur von den Zellkernen des Dotterstocks übertroffen (Fig. 1); besonders stark ausgeprägt ist dieser Unterschied zwischen gonialen (also Hoden-, Ovar- und Dotterstock-) Kernen und denen der somatischen Zellen in jüngeren Embryonen, was um so auffallender ist, als man hier eigentlich weniger als im erwachsenen Individuum von einer Sonderstellung reden kann, die die Gonocyten einnehmen. Aber auch durch eine gewisse Regelmäßigkeit der Chromatinanordnung sind diese letzteren ausgezeichnet, die besonders zutage tritt, wenn der Hauptnucleolus auf dem Schnitte getroffen ist (Fig. 1 u. 2a): wir sehen dann das Chromatin in feinerer oder gröberer Verteilung zu Längszügen angeordnet dem Hauptnucleolus als Centrum zustreben; durch etwa vorhandene kleinere Neben-

nucleolen wird diese Anordnung nicht wesentlich beeinflußt (Fig. 2a). Es kommt dadurch ein Bild zustande, als hätten wir radiale Chromatinfäden (um nicht zu sagen: Chromosomen) vor uns, die aufgelockert und scheinbar zerfallen wären, wobei aber ihre Zerfallsprodukte, zusammengehalten durch eine achromatische fädige Grundlage, die ursprüngliche Richtung auf den Nucleolus beibehielten; nun lassen sich aber in dem flockigen Liningerüst, das den ganzen Kern erfüllt, durchaus keine fädigen Strukturen nachweisen, die Kerne sind wohl auch ein wenig zu klein für dahinzielende Untersuchungen, so daß ich höchstens auf indirektem Wege die Persistenz der Chromosomen in der ruhenden Ovogonie nachweisen könnte; erwähnen will ich nur in diesem Zusammenhange die prophasische (diakinetische[1]) Anordnung der Chromosomen (Fig. 6a): sie scheinen direkt aus den Chromatinzügen des Ruhekerns durch Verdichtung hervorgegangen zu sein. Doch sind, wie mir scheint, diese Erörterungen über Kontinuität oder Nichtkontinuität der Chromosomen durch die letzten Arbeiten des leider so früh verstorbenen Jörgensen (1913) gegenstandslos geworden, da er an einem überwältigenden Material, bestehend aus Vertretern der verschiedensten Tiergruppen, eindeutig die Persistenz der Chromosomen in der Wachstumsphase der Oocyten nachweisen konnte, was wahl a fortiori für den Oogonienruhekern gelten muß; ich werde auf diese Arbeiten noch mehrfach zurückkommen.

Jeder Oogonienkern, auch der jüngste, enthält einen Nucleolus, später meist neben dem einen großen noch ein bis zwei bis mehrere Nebennucleolen. Alle diese Nucleolen verhalten sich Farbstoffen gegenüber gleich: sie speichern das Eisenhämatoxylin stark, nehmen aber specifische Basi-Chromatinfarben, wie Boraxkarmin, Safranin, Kleinbergs, Ehrlichs oder Delafields Hämatoxylin nur schwach auf. Diese Farbreaktionen, verbunden mit der Tatsache, daß man Nucleolen noch im Stadium der Äquatorialplatte mitten zwischen den fertigen Chromosomen liegen findet (Fig. 4), zeigen deutlich, daß die Nucleolen nichts mit dem Chromatin der Chromosomen, noch mit ihrer Bildung zu tun haben; ich werde auf die Bedeutung dieses Umstandes bei Schilderung der Befruchtung und Furchung zurückzukommen haben.

Hier ist es, scheint mir, am Platz, eine Erscheinung zu erwähnen, die auch wieder erst bei Besprechung der Vor- und Furchungskerne volle Würdigung erfahren kann: der für gewöhnlich einheitliche Oogonienkern zerfällt in nicht allzu seltnen Fällen in sogenannte Karyomeren, d. h.

[1]) Wir haben ein Recht, hier von einer »Diakinese« zu sprechen, da die fertigen Chromosomen von der Kernmembran umschlossen sind (vgl. dazu Häcker, 1910).

in eine Anzahl mehr oder weniger selbständiger Bläschen mit deutlicher »Kernmembran« und reichlichem Chromatingehalt (Fig. 5); ich habe diesen Kern zur Darstellung gewählt, weil er erstens ganz in den einen Schnitt (von 10 μ Dicke) fiel und weil er zweitens seine Zusammensetzung aus 10 Karyomeren deutlich erkennen läßt, was seine Bedeutung durch die Übereinstimmung mit der Normalzahl der Chromosomen bei *Mes. ehrenbergi* erhält, die auch zehn beträgt. Diese Karyomerenbildung, die ein Charakteristikum der Vorkerne ist, scheint aber bei den Oogonien nicht notwendig in den Gang der Kernentwicklung zu gehören, was ich aus ihrer vollkommenen Abwesenheit in sehr vielen Ovarien schließe.

Über das Plasma des Syncytiums ist nicht viel zu sagen: es ist sehr feinkörnig und enthält noch keinerlei Einschlüsse, wie Dotterkörnchen, Fetttröpfchen oder dergl. Bei Eisenhämatoxylin-Eosinfärbung nimmt es einen durchs Hämatoxylin allein bedingten bläulichen Ton an, das Eosin bleibt wirkungslos.

Durch Zählungen an Individuen sehr verschiedenen Alters habe ich festgestellt, daß die Menge der ruhenden Oogonienkerne nur sehr geringen Variationen unterworfen ist: sie schwankt zwischen 35 und 45, ganz gleichgültig, ob das Tier noch keine Eier im Uterus trägt oder schon in der Bildung von Sommer- bzw. Wintereiern begriffen ist. Im Laufe seines Lebens aber bildet *Mes. ehrenbergi* bis zu 50 Sommer- und 20 Wintereier: es müssen also teilweise die Eier aus Teilungen der Oogonien hervorgehen, besonders da ich nie vollkommen erschöpfte Keimlager gefunden habe; doch würde im Durchschnitt schon eine einmalige Teilung sämtlicher primären Oogonien (Ureier) bei weitem genügen, um den Lebensbedarf des Individuums zu decken. Mit dieser approximativen Berechnung stimmt die Tatsache überein, daß mitotische Figuren im Keimstock der Mesostomatini nur selten zur Beobachtung gelangen, ja, von einigen Untersuchern werden sie überhaupt geleugnet; ich habe sie bei etwa 40—50% der von mir untersuchten Tiere gefunden, und zwar gewöhnlich bloß eine Teilung pro Ovarium, selten deren zwei, und auch hierbei spielt Alter, Jungfräulichkeit oder Trächtigkeit des Tieres keine Rolle.

Die Chromosomen der Diakinese[1]) scheinen, wie ich schon erwähnte, aus den Chromatinzügen des Ruhekerns durch Verdichtung direkt hervorzugehen, sie liegen dann als ziemlich kurze und plumpe Bügel noch von der Kernmembran umschlossen da (Fig. 6a); in manchen Fällen allerdings (Fig. 2b) bilden sie sich sofort als lange dünne und vielfach gewundene Schleifen aus, die dann ohne weitere Umwandlungen in die Äqua-

---

[1]) Vgl. die Anmerkung auf S. 163.

torialplatte sich einordnen können. Diese weist nämlich (Fig. 8, 9, 10) in späteren Stadien stets die langen dünnen Chromosomen auf, ebenso wie die Metaphase (Fig. 11), während zu Beginn die kurzen dicken Bügel der Diakinese sie noch zusammensetzen (Fig. 3, 7); diese machen also stets eine Streckung, verbunden mit einer Verschmälerung durch. Die Zählung ist im Stadium der Äquatorialplatte leicht, wenn man dieselbe von oben sieht (Fig. 8): wir finden die Normalzahl 10, die sich in embryonalen somatischen Mitosen (vgl. Bresslau 1904) leicht und ebenso sicher kontrollieren und bestätigen läßt; die Ansichten von der Seite (Fig. 9 u. 10) sind weniger günstig wegen der Länge der Schleifen, die selten ganz in einen Schnitt zu liegen kommen. Die ganze Teilung verläuft, was die Pro- und Metaphasen anbetrifft, rein homöotypisch unter dem Bilde einer gewöhnlichen somatischen Mitose; die Ana- und Telophasen müssen rascher ablaufen als die ersten Stadien, da ich sie keinmal habe antreffen können.

Was die achromatischen Strukturen angeht, so lassen sich bei günstiger Färbung (am geeignetsten ist die langsame progressive Orange G-Tinktion) zwei Centrosomen feststellen, von denen eine schöne Polstrahlung ausgeht, während eine Centralspindel zu fehlen scheint (Fig. 9 u. 10): die Centrosomen färben sich intensiv mit Orange und entsprechen darin vollkommen denen der Furchungszellen; nur einmal konnte ich ein scharf umschriebenes Centriol als Mittelpunkt des Centrosoma beobachten (Fig. 12), es zeichnete sich durch seine dunklere Orangefarbe aus. Die Größe der Centrosomen ist je nach ihrem Entwicklungszustand verschieden: die Fig. 9, 10 und 12 stellen eine progressive Reihe dar, die letzte von ihnen die maximale beobachtete Größe. In den Metaphasenbildern konnten sie nie zur Darstellung gebracht werden.

Kurz möchte ich noch auf die Zelle b der Fig. 6 hinweisen, die einen degenerierenden Oogonienkern in einem entsprechend veränderten Plasmabezirk zeigt; ganz ähnliche »sphäroidale« Degenerationsbilder der Chromosomen bei aufgelöster Kernmembran habe ich bei Acanthocephalen beschrieben (v. Voss 1910): die Substanz der Chromosomen scheint in größere oder kleinere Tropfen zusammenzulaufen, wie etwa das Plasma eines absterbenden Pseudopodiums von *Actinosphaerium*, und auch das sonst feinkörnige Plasma des Syncytiums zeigt an dieser Stelle, d. h. im Bereich des degenerierenden Chromatins einen grobwabigen Bau, wie ich ihn sonst nie in den Eiern oder dem Ovarium von *Mes. ehrenbergi* angetroffen habe. Wegen der Seltenheit der Erscheinung ist natürlich der Gedanke an eine nutrimentäre Bedeutung des Degenerats ausgeschlossen.

2. Die Wachstumsperiode.

Ich fasse unter diesem Namen die Synapsis, die eine starke Größenzunahme des Kernes mit sich bringt, und die Periode des typischen Wachstums des Oocytenplasmas, das Keimbläschenstadium, zusammen. da beide in zu engem Zusammenhange stehen, als daß man sie trennen könnte, und da die zweite wohl mit durch die erste bedingt ist, wie im kritischen Teil am Schlusse der Arbeit zu erörtern sein wird. Hier gehe ich sofort zur Schilderung meiner Beobachtungen über.

a) Die Synapsis.

Am günstigsten zur Beobachtung der Veränderungen, die in dem jungen Oocytenkern vor sich gehen, erweisen sich die mit Safranin-Lichtgrün behandelten Schnitte: während nämlich in den Oogonienkernen die rotgefärbten, kleineren oder größeren Chromatinbrocken den ganzen Kernraum erfüllen und es mit Mühe gelingt, ein hellgrünes, achromatisches Gerüst nachzuweisen, sodaß der ganze Kern einen intensiv roten Eindruck macht, beginnt schon in den vorbereitenden Stadien der Synapsis, parallel zur Volumzunahme des Kernes auch seine Verfärbung sich geltend zu machen: die roten Chromatinkörner rücken immer weiter auseinander, zwischen ihnen, sie verbindend, wird das achromatische Fadenwerk deutlicher und deutlicher, und die grüne Farbe ist die vorherrschende geworden.

Aber abgesehen von diesem sich sofort in die Augen werfenden Farbenumschlag des Kernes gehen wichtige Veränderungen und Umlagerungen an seinen chromatischen Bestandteilen vor sich. Die radiäre Anordnung der Chromatinbrocken (vgl. Fig. 2a) schwindet, sie macht einer unregelmäßigen Verteilung derselben Platz, die — wie schon gesagt — den scheinbar vollkommen regellos verlaufenden Fadenzügen des Achromatins folgen: es kommt auf diese Weise ein Kern zustande, der in seinem Aufbau täuschend an die von von Winiwarter beschriebenen »noyaux transitoires« des Säugerovariums erinnert: ein Vergleich unsrer Fig. 13 mit denen des belgischen Autors (1909, Fig. 24—26, 37 und 38 auf Taf. V) zeigt das zur Genüge. Typisch für diesen Beginn des leptotän-synaptänen Stadiums ist auch das Verschwinden der Nebennucleolen, wie sie in den Oogonien häufig anzutreffen waren; jetzt liegt nur ein, allerdings stark vergrößerter Nucleolus vor und bleibt auch von nun ab bis zur Ausbildung der Reifungsspindel in Einzahl erhalten, er färbt sich intensiv mit Safranin und läßt in seinem Innern schon jetzt vacuolige Bildungen erkennen; es erscheint mir wahrscheinlich, daß die verschiedenen Nucleolen

des Oogonienkerns zur Bildung eines einheitlichen hier zusammenfließen, und daß die Vacuolenbildung eine Phase dieses Vorgangs ist; eine ähnliche Erscheinung werden wir in der Wachstumsperiode s. str. wiederfinden.

Es läßt sich auf diesem, übrigens sehr kurz dauernden Stadium nicht feststellen, ob ein einheitliches Spirem oder getrennte Fäden vorliegen; wenn nun aber der Kern schnell zu wachsen beginnt, und seine Übersichtlichkeit dadurch bedeutend zunimmt, kann das Vorhandensein einzelner Chromatinfäden sehr wahrscheinlich gemacht werden (Fig. 14 bis 17): während des Wachstums streckt sich nämlich der Kern zu einem ellipsoiden Gebilde und dementsprechend ordnen sich auch die erwähnten Chromatinzüge parallel der größten Achse des Ellipsoides an; es ist nun aus Fig. 15a und 16 ohne weiteres zu erkennen, daß dem einen Pol des Kernes alle bügelförmigen Umbiegungsstellen, dem andern die freien Enden der Fäden zugekehrt sind: handelte es sich um einen einheitlichen Faden, so wäre der Grund nicht einzusehen, warum bloß an einem und nicht auch am andern Pol mal die Bügel getroffen wurden, während die Annahme getrennter Fäden, deren freie Enden nach einem Pole konvergieren, den Sachverhalt zwanglos erklärt und uns in diesem Stadium ein frühes, leptotänes Bukett erkennen läßt.

Ein weiterer Beweis für die Richtigkeit dieser Auffassung der Kernstruktur liegt im Auftreten eines individualisierten »Monosoms«, wie ich es objektiv nennen will: in seltenen Fällen schon früher, d. h. im »noyau transitoire«, stets aber im gestreckten Kern hebt sich ein stark tingierter Chromatinbalken, der in der Mitte einen Längsspalt zeigt, vom übrigen Fadengewirr ab (wo er auf den Figuren nicht dargestellt ist, liegt er stets im nächsten Schnitte durch denselben Kern); meist in Form eines mehr oder weniger leicht gebogenen Stabes auftretend, kann dieses »Monosom« auch winklig sich krümmen (Fig. 15b) oder an einem Ende kugelig aufgetrieben sein (Fig. 21). Eine Verwechslung mit dem Nucleolus ist also schon durch die Gestalt ausgeschlossen, umsomehr, als beide Gebilde sehr häufig neben einander im Kern zu finden sind, aber auch die Möglichkeit, daß wir ein fädiges Nucleolarderivat vor uns hätten, ist abzuweisen, weil das »Monosom« stets die gleichen Farbreaktionen zeigt, wie das Chromatin der Chromosomen, indem es z. B. bei Färbung mit dem Kleinenbergschen alkoholischen Hämatoxylin eine blau-violette, der Nucleolus hier eine purpurne, fast rote Farbe annimmt.

Auch das Monosom stellt sich in die allgemeine Längsrichtung der Chromosomen ein (Fig. 14, 15, 16).

Ein Vergleich der Fig. 13—19 zeigt, wie stark das Keimbläschen nun heranwächst, ein Wachstum, das wohl hauptsächlich auf eine schnelle

Flüssigkeitsaufnahme zurückzuführen ist, denn für eine so rapide Größenzunahme können wir uns kaum einen andern Faktor als Ursache denken: man halte etwa den Oogonienkern der Fig. 2a und den kaum durch Übergänge davon getrennten Kern von Fig. 15a aus der beginnenden Synapsis nebeneinander, der erste mißt 10: 6 μ, der letzte 17: 12 μ! Es macht den Eindruck, als hätte der zähflüssige Kernsaft nicht die Zeit gehabt, sich mit dem frisch imbibierten vollkommen zu mischen: die ersten eindringenden Massen konnte er noch bewältigen (Fig. 14, 16), die weiteren nicht mehr und nimmt nun samt den in ihm enthaltenen Chromosomen und dem Nucleolus die zentrale Partie des Kernes ein, während die ganze Peripherie von dem dünnflüssigen oder auch noch rein wässerigen Inhalt des Keimbläschens eingenommen wird.

Durchaus im Einklang mit diesen Beobachtungen scheint mir die Tatsache zu stehen, daß in allen Oocytenkernen, angefangen von den »noyaux transitoires«, eine Kernmembran vollkommen fehlt: das Plasma steht daher in besonders inniger Beziehung zum Kerninhalte, ist in den ersten Stadien kaum vom Kernsaft durch die etwas dunklere Färbung zu unterscheiden, trennt sich dann in den Synapsisbildern von ihm durch den beschriebenen hellen Raum, um in der Postsynapsis (Fig. 21) wieder jegliche scharfe Scheidung zu verlieren.

Wir waren in der Schilderung der Kernveränderungen bei der beginnenden Zusammenballung des Kerninhaltes (Fig. 15 u. 16) stehen geblieben; sie geht nun weiter und erreicht ihren Höhepunkt mit den Kernen der Fig. 17 und 18, um dann wieder langsam abzuklingen und durch Stadien, wie Fig. 19 und 20 sie zeigen, zum Bilde eines Ruhekerns (Fig. 21) zurückzuführen, der lange Chromatinfäden in gleichmäßiger Verteilung im homogenen Kernsaft enthält.

Was ist nun, während sich diese Erscheinungen am Kern, als Ganzes genommen, abspielten, mit seinen chromatischen Bestandteilen im einzelnen vor sich gegangen? Wir sahen, daß eine Anzahl getrennter bügelförmiger Chromatinfäden sich parallel lagerten, ihre freien Enden konvergierten nach dem einen Pole, sodaß ein, wenn auch nicht ganz klares Bukettstadium zu stande kam; die Fäden waren dünn und nur schwach gefärbt, stellten somit ein echtes Leptonema dar (Fig. 17); so stehen die Dinge auf dem Höhepunkt der Synapsis. Ehe diese jedoch bereits zurückzugehen beginnt, erfolgt — augenscheinlich sehr rasch — eine bedeutende Dickenzunahme der Fäden und zugleich steigt ihre Färbbarkeit bedeutend (Fig. 18): schon auf diesem Bilde, noch besser aber auf dem stärker vergrößerten der Fig. 20 erkennt man deutlich die Doppelnatur dieser Fäden: sie bestehen aus einer biserialen Reihe von Chromatinkörnern, die unter

einander durch weniger intensiv gefärbte Brücken verbunden sind; sie ließen sich vielleicht am besten mit dem Strickleiternervensystem eines Arthropoden vergleichen, dessen einzelne Ganglienanschwellungen sehr nahe an einander gerückt sind. Diese Doppelfäden nun — als Pachynema zu bezeichnen — gehen, allem Anschein nach, nicht aus einer parallelen Konjugation oder Kopulation (VEJDOWSKY) von je zwei ursprünglich getrennten Chromosomen hervor, sondern aus der Längsspaltung der aus den Oogonien überkommenen Fäden. Eine direkte Kontrolle durch die Zählung ist bei der langen Ausdehnung der Schleifen ausgeschlossen, wohl aber läßt sich sagen, daß wir es sicher mit zehn oder mehr, nicht aber bloß mit fünf Chromosomen zu tun haben, also mit der diploiden, nicht mit der haploiden Zahl: Fig. 20 stellt bloß den Anschnitt eines Kernes dar und schon hier kommen wir auf eine Zahl von etwa sieben Einzelfäden; ähnliche Verhältnisse zeigen die andern Abbildungen aus diesem Stadium (Fig. 19, 21), vor allem aber werden wir sehen, daß sich aus dem Keimbläschen zehn ungepaarte Chromosomen differenzieren.

Es liegt hier also ein echter Längsspalt vor, wie ihn z. B. POPOFF (1907) ganz ähnlich für die pachytänen Kerne von *Paludina* schildert; diese hier nur angedeutete Teilung wird erst in der zweiten Reifungsmitose effektiv. Der Längsspalt ist in den ersten postsynaptischen Kernen am deutlichsten (Fig. 20), erhält sich spurweise bis in den Ruhekern (Fig. 21 unten rechts), um in den eigentlichen Keimbläschenstadien zu verschwinden. Nur das Monosom, das gleich bei seinem ersten Auftreten (Fig. 14) längsgespalten war, zeigt das gleiche Aussehen auch in den ältesten Eiern der Wachstumszone, die schon kurz vor dem Eintritt in das Receptaculum seminis stehen (Fig. 24), nur daß es jetzt voluminöser geworden ist.

b) Die Wachstumsperiode s. str.

Während der Synapsis war es die Größenzunahme des Kernes, die unser Augenmerk auf sich richtete: nun beginnt das Plasma sein Volumen zu vermehren; selbstverständlich sind aber diese beiden Prozesse zeitlich nicht streng von einander zu scheiden, da ein langsames Anwachsen des Plasmaleibes der Eizelle auch schon während der Synapsis stattfindet und andrerseits der Kern auch nach der Synapsis noch fortfährt sich zu vergrößern, obgleich das auf Durchschnitten dank der merkwürdigen Struktur des distalen Endes des Ovariums nicht leicht zur Anschauung gelangt: bekanntlich liegen hier die Keimzellen dicht hinter einander, geldrollenförmig angeordnet (Textfig. I), eine jede (meist) den ganzen Querdurchmesser des Ovariums einnehmend; durch den Druck,

den die nachfolgenden Keime ausüben, werden die voraufgehenden dergestalt abgeplattet, daß sie uns auf Längsschnitten (Textfig. I, Fig. 25) als schmale Ellipsen und ihre Kerne als ebensolche erscheinen; von der Größe des Kernes einer solchen Eizelle erhält man daher nur auf Querschnitten eine richtige Vorstellung (Fig. 26): sie beträgt in den extremsten Fällen etwa 43 μ für die Länge, 38 μ für die Breite und 14 μ für die Höhe des Kernes, während die gewöhnlichsten Maße etwa um je 5 μ für Länge und Breite und 2 μ für die Höhe geringer sein mögen. Letzten Endes ist das Verhältnis dieser drei Zahlen zu einander vollkommen abhängig von dem Druck, der in diesem Teil des Ovariums herrscht, und der Druck wiederum ist in der Hauptsache eine Funktion des Füllungsgrades des Organs: wie stark er werden kann, illustriert Textfig. II: hier ist die geldrollenförmige Anordnung der Eizellen durch die zahlreich nachrückenden durchbrochen worden, einzelne Oocyten haben zur Seite ausweichen müssen und infolgedessen die Wandung des Ovariums buckelförmig aufgetrieben: die Kerne aber sind — befreit vom einseitigen Druck — zur Kugelform zurückgekehrt. Interessant ist es, daß in diesen abnormen Fällen eine Erscheinung zutage tritt, die sonst dank der »Zwangslage« der Keimzellen nicht zum Ausdruck kommen kann: das sind die amöboiden Gestaltsveränderungen des Eikerns (Fig. 27 und Textfig. 2 *a. K.*), die hier vermutlich mit dem regen Stoffwechsel des Keimbläschens in Zusammenhang stehen; ähnliches konnte ich (1910) in den Eiern von *Echinorhynchus proteus* in der Wachstumsperiode beobachten und mit der Assimilationstätigkeit des Kernes in Verbindung setzen. Wir werden weiter unten bei *Mesostoma ehrenbergi* noch einmal auf solche Gestaltsveränderungen des Kernes zu sprechen kommen und sie dort zum Teil auf andre Ursachen zurückführen müssen (s. S. 173—174).

Textfig. II.



Durch den Druck der Keimzellen deformiertes Ovarium. *m*, Monosom; *a. K.*, amöboider Kern.

Zwei weitere Erscheinungen, die die Wachstumsperiode s. str. charakterisieren, stehen in Abhängigkeit von einander und lassen sich nicht getrennt behandeln, nämlich die weitere Entwicklung der chromatischen Substanzen im Kern und die Umbildung und das Wachstum des Plasmas.

Die Veränderungen der chromatischen Substanzen stehen im Zeichen eines Gesetzes, das seine prägnante Formulierung vor kurzem durch JÖRGENSEN (1913) erhalten hat; ich führe seine Worte hier in extenso an (S. 33): »... während des Eiwachstums sind die Chromosomen des Eikernes stets — rein oxychromatisch, die nucleolären Substanzen dagegen stets — rein basichromatisch«, »...es sei uns gestattet, diese Gesetzmäßigkeit der Kürze halber zu bezeichnen als das Gesetz der umgekehrten Reaktion der Kernkomponenten während des Eiwachstums«. Ich kann diese, auf einer breiten Basis von Beobachtungen beruhenden Folgerungen JÖRGENSENS durch meine Untersuchungen an *Mes. ehrenbergi* vollkommen bestätigen, denn auch hier beginnen nun nach Beendigung der synaptischen Periode die Chromosomen ihre starke Färbbarkeit mit basichromatischen Farbstoffen mehr und mehr zu verlieren, ihre Konturen werden durch die starke Verlängerung und zahlreiche seitliche Fortsätze verschwommener, so daß es unmöglich ist, die einzelnen Fäden zu unterscheiden: sie stellen sich dar als ein Gewirr fädiger Elemente, die sich mit Orange G, mit Lichtgrün färben und erst mehr, dann immer weniger basichromatische Chromiolen aufweisen, bis diese gänzlich verschwinden und nur noch (mit Lichtgrün) blaß gefärbte Stränge vorliegen (vgl. dazu die Fig. 22—26). Zu gleicher Zeit rücken die Chromosomen immer mehr an die Peripherie des Eikerns, sodaß der centrale Raum nahezu vollständig von Chromatin entblößt erscheint (Fig. 22 und 25); wir finden daher auf Medianschnitten durch den Kern, die ihn in seiner größten Ausdehnung treffen, nur relativ wenig chromatische Substanz (Fig. 25 m), auf tangentialen Anschnitten dagegen die Hauptmasse der stark verlängerten und vielfach verzweigten Chromosomen (Fig. 25 *t*). Man kann also bei *Mes. ehrenbergi* mit einem gewissen Recht von einer regellosen, nicht aber von einer staubförmigen Verteilung des Chromatins in diesem Stadium sprechen. Ich sage: »mit einem gewissen Recht«, da wir ja nicht imstande sind, die einzelnen Fäden zu unterscheiden; gegen die Regellosigkeit der Verteilung spricht aber das Verhalten des »Monosoms«, denn auch in der Periode, wo die Struktur der übrigen Chromosomen nicht mehr mit Sicherheit wahrgenommen werden kann, bleibt jenes in seiner ursprünglichen, gespaltenen Form erhalten, eine wohl unterscheidbare, scharf abzugrenzende Masse (Fig. 22 u. 24).

In diese Periode der »umgekehrten Reaktion« fällt eine andre Erscheinung, die mit dem Riesenwachstum des Eies entschieden in Zusammenhang steht: es treten nämlich — erst in geringer (Fig. 23), dann in immer größerer Menge (Fig. 26) — längs den »Chromatinzügen« kleine Tröpfchen auf, die sich in Safranin-Lichtgrün-Präparaten intensiv rot färben und

augenscheinlich von eben diesen »Chromatinzügen« produziert sind; ich habe sie besonders gut auch an Schnitten, die mit Kleinenbergschem alkohol. Hämatoxylin gefärbt waren, beobachten können und zugleich festgestellt, daß die gleichen Tröpfchen bald darauf auch im Plasma des Eies und im Nucleolus erscheinen. Der ganze Nucleolus ist basichromatisch gefärbt: seine Grundsubstanz heller, die erwähnten Tröpfchen dunkel, dabei von der Peripherie zum Centrum an Größe zunehmend, sodaß es den Eindruck macht, als flössen die kleineren zu immer größeren Tropfen zusammen (Fig. 23). Auch im Plasma zeigen sich nun, erst nur hie und da (Fig. 23), dann häufiger (Fig. 25), schließlich durch das ganze Ei zerstreut (Fig. 26), diese kleinen basischen Abschmelzungsnucleolen (denn als solche haben wir die Gebilde wohl zu betrachten). Wohl als Folge dieses Auswanderns basichromatischer Substanz aus dem Kern ins Plasma, das — wie schon gesagt — durch keine Kernmembran gehindert wird, haben wir die zunehmende Färbbarkeit des Eiplasmas mit Safranin, Kleinenbergschem Hämatoxylin usw. aufzufassen; es geht so weit (Fig. 26), daß schließlich alles: Nucleolus, Abschmelzungsnucleolen und Plasma intensiv rot (Safranin), die Kerngrundsubstanz und die zarten Chromosomen allein schwach grün (Lichtgrün) gefärbt sind.

Es erübrigt mir nur nochmals auf das Fehlen der Kernmembran hinzuweisen, wie es aus Fig. 26 besonders überzeugend hervorgeht: Eiplasma und Kerngrundsubstanz verfließen miteinander, sodaß man häufig nicht sagen kann, ob die Chromosomen noch im Kern oder schon im Plasma liegen; ebenso werden die kleinen basischen Nucleolen häufig in dem Grenzgebiet angetroffen, also auf der Wanderung aus dem Keimbläschen ins Plasma.

Bevor ich nun zur Schilderung der Eireifung übergehe, möchte ich noch einige Worte über die im Endteil des Ovidukts, dem blasigen Receptaculum seminis (Textfig. I) erfolgende Besamung (vgl. Bresslau 1904, Anm. S. 221) des Eies einschalten. In Übereinstimmung mit Bresslau und im Gegensatz zu Schneider (1883) und Hallez (1879) habe ich stets nur ein Spermatozoon ins Ei eingedrungen gefunden; es kann allerdings in so vielfachen Windungen aufgerollt liegen, daß man bei nicht sehr genauer Beobachtung mehr als eines vor sich zu haben glauben kann. Wenn aber Bresslau weiterhin sagt: »es ist mir, da eine Dotterhaut, entgegen den Angaben Schneiders, sicher nicht gebildet wird, unbekannt, wie eine Überbefruchtung vermieden wird ...«, so muß ich dem gegenüber betonen, daß in den wenigen Fällen, wo mir eben besamte Eier vor-

lagen, immer eine sehr dünne, glasige Befruchtungsmembran zu konstatieren war (Fig. 28, 29), die dann bei nur wenig älteren Eiern, die schon von Dotterzellen umgeben im Uterus lagen, nachzuweisen mir niemals gelang; wir sind gezwungen anzunehmen, daß sie, durch Ausbildung der Eischale überflüssig geworden, wieder aufgelöst wird. Der Modus der Besamung ist also bei *Mes. ehr.* ein durchaus normaler.

II. Von der Prophase I bis zur Telophase II.

1. Die Diakinese.

Zu der Beschreibung, die Bresslau (1904) von der Bildung des zusammengesetzten Sommereies, von der Zahl und Lage und vom Aussehen der Dotterzellen gegeben hat, brauche ich nichts hinzuzufügen. Die Keimzelle, meist von runder oder ein wenig ovaler Gestalt, scheint gegen die Eier der Wachstumszone ein wenig kleiner geworden zu sein; es ist aber schwer, den Vergleich zwischen der plattgedrückten Form im Ovar und dem zur Kugelform zurückgekehrten Ei im Uterus einigermaßen genau anzustellen; immerhin ist das Plasma des letzten bedeutend dichter, speichert die basischen Farbstoffe stark und durchaus gleichmäßig und macht einen feingranulären Eindruck. Die Eizelle mißt in ihrem größten Durchmesser 35—45 μ, ihr Kern dementsprechend 25—35 μ, sodaß sich also das Verhältnis von Kern und Plasma ein wenig zugunsten des ersten verschoben hat.

Am Kern beginnen nun, kurz nach dem Übertritt in den Uterus, in verstärktem Maße jene amöboiden Gestaltsveränderungen, von denen weiter oben (S. 170) bereits die Rede war. Sie führen schließlich auf ihrem Höhepunkt zur Ausbildung eines Kernes von ganz abnormer Gestalt (Fig. 30, 31), die am besten mit einem mehr oder weniger ausgehöhlten Kegel verglichen werden kann, dessen Mantel aber wiederum seitliche Aussackungen aufweist: die Kegelform geht aus dem Längsschnitt (Fig. 31) hervor, die seitlichen Wülste ergeben sich klar aus dem Querschnitt (Fig. 30), der an sich nicht ohne weiteres verständlich erscheint, da er wenig Ähnlichkeit mit einem echten Keimbläschen hat. Schon von andern Objekten sind ähnliche, wenn auch nicht so extrem ausgebildete Kernformen aus diesem Stadium der Eibildung beschrieben worden; um nur mit *Mes. ehrenbergi* nahverwandte Formen zu erwähnen, nenne ich *Dendrocoelum* (Mattiesen 1904) und *Polystomum integerrimum* (Halkin, Goldschmidt 1902). Fast immer konnten die Untersucher jene Einbuchtung des Kernes mit dem Auftreten des Centrosoms der Reifungsteilung I im in den Kern vorgeschobenen Plasmakegel in Verbindung setzen (s. vor allem Halkin

1902): leider ist es weder BRESSLAU, der ebenfalls diese Einbuchtung bei *Mes. ehrenbergi* beobachtet hat, noch mir gelungen, auch nur eine Andeutung von Centrosom oder Strahlung nachzuweisen, obgleich HALLEZ (1908) sie neuerdings für *Paravortex* angibt, sodaß es immer wahrscheinlicher wird, daß auch bei *Mes. ehr.* nichts anderes vorliegen kann. In dieser Auffassung bestärkt mich nicht nur der Vergleich mit den andern Objekten, sondern auch einige Beobachtungen an *Mes. ehr.* selber: so die auffallende radiäre Anordnung der diakinetischen Chromosomen um den Plasmakeil (Fig. 31), die wohl auf die richtende Kraft eines Centrosoms zurückgeführt werden könnte, und ferner eine Beobachtung am lebenden Ei, die ich in Textfig. III zur Darstellung gebracht habe: man sieht den glockenförmigen Kern, am Apex der Glockenhöhle den großen Nucleolus und im (hier nur flachen) Plasmakegel eine helle, kreisförmige Stelle, in deren nächster Umgebung die Granula strahlig angeordnet sind. Bekanntlich (vgl. BRESSLAU 1909) lassen sich bei *Mes. ehr.* die Centrosomen einwandfrei an der lebenden Zelle beobachten; da jedoch in den Reifungsteilungen keine scharf umschriebenen Centrosomen, sondern nur große Strahlensysteme auftreten, können wir auch hier nur Strahlungen erwarten; daß diese am fixierten und gefärbten Objekt ganz zu fehlen scheinen, bleibt freilich merkwürdig und unerklärlich.

Textfig. III.



Besamtes Ei nach dem Leben. Erklärung im Text.

Ich habe im Kapitel über die Wachstumsperiode gezeigt und durch die Fig. 22—27 erläutert, daß das Verschwinden der Chromosomen nur ein scheinbares ist, daß auch in diesem Stadium nicht etwa »ein chaotischer Speicher von Nucleinsubstanz« (LUBOSCH 1912), sondern wohlorganisierte chromosomale Gebilde vorliegen, die nur infolge ihrer »umgekehrten Reaktion« (s. oben) undeutlich wurden. Rascher, als dieses Bild entstand, wird es nun wieder dem entgegengesetzten Prozeß unterworfen: die Basichromaffinität der Chromosomen beginnt schnell zuzunehmen, schon im »Glockenkern« der Fig. 30 sehen wir die dunkel tingierten Querschnitte der noch an der Kernperipherie liegenden Fäden, ein wenig später haben sich diese durch den ganzen Kernraum verstreut und zeigen ein zwar noch lockeres (vielleicht alveoläres) Gefüge, heben sich aber scharf von dem übrigen Kerninhalte ab (Fig. 32). Diese — wenn ich mich so ausdrücken darf — Kondensation der Chromosomen

hat im Ei der Fig. 31 noch weitere Fortschritte gemacht, bis schließlich nur noch Spuren der einstigen lockeren Struktur vorhanden sind (Fig. 33) und diese kurz vor dem Austritt der Chromosomen ins Plasma auch verschwinden (Fig. 34). Während dieser Herausdifferenzierung — die, wie gesagt, sehr rasch vor sich gehen muß, da man nur relativ selten Stadien derselben zu Gesichte bekommt — haben wir auch Gelegenheit, uns über die ungefähre Zahl der Fäden zu orientieren: Fig. 32 gibt uns nur geringe Anhaltspunkte dafür, da die Chromosomen noch zu lang ausgedehnt sind und zum Teil jedenfalls mehrfach vom Messer getroffen wurden. Günstiger ist Fig. 31: ich habe dieses Ei zur Darstellung gewählt, einmal, weil es jene auffallende radiäre Anordnung der Chromosomen zeigt, von der oben bei Besprechung der Centrosomenfrage schon die Rede war, und zweitens, weil hier nahezu das ganze Chromatin des Kernes auf einem Schnitte getroffen ist: die Zahl der freien Enden, die nach der Peripherie zu liegen, beträgt etwa 24, es müssen also einige Schleifenschenkel doppelt getroffen sein, immerhin ist die Annäherung an die Normalzahl 20 (= 10 Chromosomen) groß genug. Eine etwas zu niedrige Zahl erhalten wir bei Prüfung von Fig. 33a und b: je nachdem, ob wir das lange Chromosoma in a einfach oder doppelt zählen, kommen wir auf acht bzw. neun als Gesamtzahl; da nun leider ein Anschnitt des Eies in der betr. Schnittserie fehlt, so können wir wohl annehmen, daß die Normalzahl zehn in der Diakinese wiederhergestellt wird: stets schwanken die erhaltenen Zahlen zwischen acht und zwölf. Es entspricht dieses Resultat durchaus unseren Beobachtungen, welche ergeben haben, daß zehn Chromosomen in die Synapsis eintraten, die keine Konjugation durchmachten, sondern nur eine bald wieder rückgängig gemachte Längsspaltung; ich möchte übrigens darauf aufmerksam machen, daß auch noch während der Diakinese ausnahmsweise der Längsspalt eine Strecke weit sichtbar sein kann (Fig. 33 *lsp*).

Das Resultat der diakinetischen Periode ist also folgendes: es haben sich aus dem oxychromatischen Fadengewirr der Wachstumsperiode etwa zehn basichromatische Chromosomen differenziert, die erst regellos im Kerne verstreut lagen, zum Schluß aber eine deutliche Zusammendrängung erfahren haben, sodaß sie alle dicht um die Spitze jenes Plasmakeils gelagert sind, in dem wir das Centrosom zu vermuten geneigt waren; da auch der Nucleolus an dieselbe Stelle zu liegen kommt, so ist der ganze übrige Kernraum von Chromatin völlig entblößt (Fig. 34). Der Kern behält aber bis zum Schluß annähernd seine ursprüngliche Größe bei, eine Kernmembran fehlt immer noch, wenn auch die Scheidung zwischen Cytoplasma und Karyoplasma schärfer geworden ist, als sie zum Schluß der Wachstumsperiode war.

2. Die erste Reifungsteilung.

Die Schwierigkeiten der Deutung der in der Prophase I sich abspielenden Vorgänge liegen in der Seriierung der vorliegenden Bilder: es läßt sich bei manchen Objekten (siehe z. B. *Polystomum integerrimum* nach Halkin und Goldschmidt) je nach der Anordnung der Stadien diese oder jene Auffassung der Reifungsvorgänge vertreten, und es bleibt daher, besonders in Fällen, wo keine lückenlose Beobachtungsreihe vorhanden ist, dem subjektiven Urteil des Untersuchers überlassen, welche Anschauung er zu der seinigen macht. Man sieht sich also notwendigerweise nach einem Hilfsmittel um, das zu einer objektiven Bestimmung der Bilderfolge sich gebrauchen läßt; ein solches ist bei *Mes. ehrenbergi* im befruchtenden Spermatozoon gegeben, das kurz vor Bildung der prophasischen Chromosomen ins Ei eindringt und sich hier allmählich unter typischen Gestaltsveränderungen zum männlichen Vorkern differenziert. Selbstverständlich liegt es mir fern, die Umgestaltungen des Spermiums nun als absolut einwandfreies Zeitmaß hinzustellen; immerhin werden wir denselben eine nicht zu geringe Bedeutung zumessen dürfen, wenn wir sehen, daß gewisse Stadien seiner Entwicklung regelmäßig mit feststehenden Phasen des Eikerns zusammenfallen, und wenn andere objektive Anhaltspunkte, wie das Vorhandensein oder Fehlen des Nucleolus, die gleiche Deutung für das Entwicklungsstadium der Ei-Chromosomen fordern, wie wir sie aus der Gestalt des Spermiums abgeleitet haben. Ein weitgehender Parallelismus in der Herausbildung von weiblichem und männlichem Vorkern ist ja nicht selten beschrieben worden (z. B. Goldschmidt für *Polystomum*, 1901), und somit liegt die Annahme einer zeitlich determinierten Veränderungsreihe des Spermiums nahe.

Ich gebe in Textfig. IV*a*—*l* die Metamorphose des Spermatozoons im Ei von *Mes. ehrenbergi* wieder, vom Moment des Eindringens bis zur Umbildung zum ♂ Vorkern. Das lange, fadenförmige Spermium (vgl. auch Luther 1904) verliert seine zwei Nebengeißeln schon während des Eindringens und rollt sich im Ei bald direkt unter dessen äußerster Schicht, bald dicht am oder um den Kern mehr oder weniger zusammen (*a*); sehr bald beginnt das eine Ende kolbig anzuschwellen und zugleich verkürzt sich der ganze Faden um ein Bedeutendes (*b* und *c*). Häufig rollt sich das verdickte Ende nun spiralig auf (*d*), wobei manchmal eine deutliche Strahlung rings um das Spermatozoon erkennbar ist (Fig. 38*a*, Taf. XIII); je mehr aber der kolbige Teil zunimmt, desto kürzer wird die Spirale (*e*) und das dünne Ende geht früher (*d*) oder später (*e*) verloren; ist die Spirale endgültig aufgelöst, so haben wir einen kurzen, gleichmäßig dicken,

leicht gebogenen Stab vor uns (*f*), der durch Zusammenziehung zum kompakten ovoiden Gebilde wird, das in Textfig. IV*g* abgebildet ist und ein häufiges Vorkommnis bildet (vgl. auch die Fig. 42 auf Taf. XIII). Hiermit hat die uns im Augenblick interessierende Entwicklung ihren Abschluß gefunden. doch will ich in aller Kürze noch auf die weiteren Stadien hinweisen: der kompakte Kern lockert sich auf (*h*), aus seinem Gerüst differenzieren sich fünf wohlunterscheidbare Chromosomen, erst als etwa biskuitförmige Stäbchen (*i*), dann als typische Kernfäden (*k*); kaum entstanden, gehen sie sofort wieder verloren im Netzwerk des nun sich bildenden ♂ Vorkerns (*l*).

Nach dieser Abschweifung, die zum Verständnis des Folgenden notwendig war, kehre ich zur Beschreibung der prophasischen Phänomene

Textfig. IV.



Metamorphose des Spermiums im Ei. Erklärung im Text.

zurück. Schon vor der endgültigen Auflösung der Kernvacuole liegen die Chromosomen und der Nucleolus, wie das ja zum Schlusse des vorigen Abschnittes an der Hand von Fig. 34 gezeigt wurde, stark zusammengeballt da. In dieser Anordnung befinden sie sich auch nach Verschwinden der Kernvacuole (Fig. 35), nur daß jetzt eine gewisse Regelmäßigkeit in die Beziehungen der Chromosomen zu einander gekommen ist, insofern als ein paarweiser Parallelismus der Fäden unverkennbar wird: man könnte von einem solchen vielleicht schon in Fig. 34 für diese oder jene Chromosomen reden, aber wirklich in die Augen fallend wird er erst jetzt und völlig durchgeführt für alle fünf Chromosomenpaare ist er endlich auf dem Stadium der Fig. 36. Befangen in der voreingenommenen Meinung, daß paarweise konjugierte Chromosomen (denn um solche handelt es sich zweifelsohne!) in die Äquatorialplatte. also in die Nähe der Metaphase I und nicht an den Beginn der Prophase gehören, habe ich mir zuerst das Vorhandensein eines Nucleolus (Fig. 35 u. 36) nicht er-

klären können: erst als ich die Gestalt des Spermiums zu Rate zog, wurde mir offenbar, daß es sich nur um allerfrühste Prophasen handeln könnte: denn das Spermium im Ei der Fig. 35 zeigt überhaupt noch keine Veränderung, es liegt im Plasma so, wie es kurz nach dem Eindringen noch sich verhält, befindet sich also im Stadium *a* der Textfig. IV; entsprechend dem ein wenig älteren Ei aus Fig. 36 ist hier der Samenfaden bereits verkürzt und am vorderen Ende verdickt (Textfig. IV*b*). Dank dieser Erkenntnis verstehen wir auch die Anwesenheit des Nucleolus, der bei *Mes. ehrenbergi* auch sonst noch nach Auflösung des Kernes intakt angetroffen wird; ich erinnere an Fig. 4, eine Prophase einer Oogonienteilung, woselbst der Nucleolus inmitten der Chromosomen liegt.

Trotz der nahen Aneinanderlagerung der Chromosomen während dieser paarweisen Vereinigung verschmelzen die Partner doch nie mit einander, sondern es bleibt ein deutlicher Längsspalt in der ganzen Ausdehnung zwischen den Konjuganten erhalten. Daß dieser Spalt aber ganze Chromosomen von einander scheidet und nicht etwa mit dem synaptischen Längsspalt im Chromosom zu identifizieren ist, geht aus einer Zählung der Paare ohne weiteres hervor: schon in Fig. 35 erkennen wir eher fünf als zehn Paare und ohne jede Schwierigkeit sind sie in Fig. 36 zu zählen; ich brauche wohl kaum zu erwähnen, daß selbstverständlich in beiden Figuren jedesmal das ganze Chromatin zur Darstellung gebracht ist, das günstigerweise infolge seiner starken Zusammenballung in einen Schnitt (von 10 μ Dicke) gefallen war.

Das Stadium der konjugierten Chromosomen ist außerordentlich kurz; denn während sich nun von zwei Seiten her die Attraktionssphären auszubilden beginnen, die einzelnen achromatischen Fasern aber noch längst nicht in die Nähe der Chromosomen reichen, weichen die Paarlinge auch schon wieder auseinander (Fig. 37), sie lassen weniger und weniger ihre Zusammengehörigkeit erkennen (Fig. 38), bis schließlich jede Spur einer paarweisen Vereinigung schwindet und die Chromosomen — ich möchte sagen — bunt durch einander gewürfelt zwischen den Strahlensystemen der Teilungspole liegen (Fig. 39). Diese unregelmäßige Lagerung bringt es mit sich, daß man nicht eigentlich von einem Äquatorialplattenstadium reden kann, die Spindelfasern setzen vielmehr sukzessive an den Chromosomen an, und daher kommt es, daß man in den Metaphasen fast regelmäßig die Chromosomen teils noch in der Äquatorialebene, teils schon den Polen stark genähert findet (Fig. 40).

Es gelangen nun nicht gerade selten Metaphasen zur Beobachtung, die eine abweichende Konfiguration der Chromosomen aufweisen, indem diese entweder alle (Fig. 41) oder wenigstens zum Teil (Fig. 42) eine paarweise

Gegenüberstellung zeigen, dies auf einen engeren Zusammenhang zwischen ihnen hindeutet. Die Erklärung dieses Befundes für den theoretischen Teil versparend, will ich hier hervorheben, daß diese — sozusagen — schematischen oder simultanen Metaphasen (vgl. SCHELLENBERG 1911) bedeutend klarer sind, als die gewöhnlichen, und eine Zählung der Chromosomen gestatten: es werden fünf einwertige, ganze Chromosomen zum Richtungskörperpol geführt, die fünf andern bleiben im Ei zurück. Hier muß ich auf eine Erscheinung aufmerksam machen, die eigentlich nur während der Metaphase I zur Beobachtung gelangte: ich meine die verschiedene Größe der Chromosomen; schon während der zweiten Reifungsteilung wird die Verschiedenheit sehr undeutlich, in den Furchungsteilungen schwindet sie vollkommen, auch fehlt sie in den Oogonien und schließlich ist sie auch in der Metaphase I durchaus nicht konstant, indem z. B. Fig. 42 vier große und sechs kleine Chromosomen aufweist, Fig. 43 dagegen acht große und nur zwei kleine: alles in allem kann ich ihr daher keine prinzipielle Bedeutung zumessen und möchte sie nicht für etwas Primäres ansehen, sondern eher für den Ausdruck eines differenten inneren Zustandes der Chromosomen, der durch die Fixationsmittel uns in Gestalt der Größendifferenz vermittelt wird.

Der weitere Verlauf der ersten Reifungsteilung zeigt nichts Außergewöhnliches, ist so schematisch einfach, daß ich mich mit dem Hinweis auf Fig. 44 und 45, eine Ana- und eine Telophase I, begnügen kann. In beiden Bildern ist die Zahl der Chromosomen ohne weiteres ersichtlich: sie beträgt — wie zu erwarten ist — fünf für den Eikern, fünf für den ersten Richtungskörper. Dieser zeigt die Chromosomen in einem blassen Plasmahof, zunächst noch deutlich getrennt, bald aber vollständig verklumpend, in welchem Zustande man den Richtungskörper noch während der ersten Furchungsteilungen liegen sieht; dann wird er resorbiert, ohne daß er je versucht hätte sich zu teilen.

3. Die zweite Reifungsteilung.

Kurz nach Bildung des ersten Richtungskörpers spalten sich die im Ei verbliebenen Chromosomen der Länge nach (Fig. 46) und rücken näher an den Richtungskörperpol heran, wo sie zur Bildung der Äquatorialplatte zusammentreten (Fig. 47). Die zweite Reifungsteilung erfolgt genau in der gleichen Ebene wie die erste: es wölbt sich ein spitzer Plasmakegel dicht neben dem ersten Richtungskörper vor, fünf Chromosomen-Längshälften treten in ihn ein, fünf wandern an den entgegengesetzten Pol, an die »Basis« des Eies (Fig. 48); nur ein sehr geringer Teil der Vorwölbung jedoch wird als zweiter Richtungskörper abgeschnürt, der dicht

neben den ersten zu liegen kommt und ihm in Größe, Gestalt und Chromatin- und Plasmagehalt durchaus gleicht (Fig. 49). An den Chromosomen des Eikerns setzen sehr bald die Veränderungen ein, die zur Ausbildung des weiblichen Vorkerns führen (Fig. 50): sie lockern sich auf, verlieren ihren scharfen Kontur, werden schließlich bläschenförmig und treten zum Pronucleus zusammen.

Kurz will ich auf Fig. 51 hinweisen, die zeigen soll, wie leicht Pseudo-Tetradenbilder zu stande kommen können, wenn man von oben auf eine Metaphase II daraufschaut: die vier angeschwollenen Enden der beiden zusammengehörigen Schleifenhälften können leicht zu Täuschungen im angeführten Sinne verleiten.

4. Die Spindelbildung der Reifungsteilungen

beschreibe ich hier zum Schluß für sich, da sie in beiden Teilungen ganz ähnlich verläuft. In seltenen Fällen kann man von einem Centrum reden, von dem die Strahlenbildung ausgeht (Fig. 37 unten), im allgemeinen konvergieren zwar die Strahlen eines Poles nach einem Punkte, ihre Anfänge verlieren sich jedoch diffus im Plasma (Fig. 42, 44, 47). Die Strahlungen gehen gleichmäßig von beiden Polen aus und durchsetzen in beiden Teilungen den ganzen Durchmesser des Eies (Fig. 45, 47, 48). Eine typische Centralspindel fehlt. Kurz nach Abschnürung des ersten Richtungskörpers findet eine Rückbildung der Spindelfasern statt; da jedoch die zweite Reifungsteilung ohne Pause direkt an die erste anschließt, so setzt auch die Spindelbildung II sehr bald ein, wobei vermutlich die Fasern der ersten noch Verwendung finden, denn beide Teilungen erfolgen, wie erwähnt, genau in der gleichen Ebene. An den Chromosomen setzen die Fasern, wie aus Fig. 41—43, 47 ersichtlich, bald medial, bald submedial, bald terminal an.

III. Theoretischer Teil.

1. Die Oogonien.

Ich habe schon im speziellen Teil auf die Unterschiede hingewiesen, die hinsichtlich des Chromatinreichtums zwischen den Kernen des Ovariums, Hodens und Dotterstocks einer- und den somatischen Kernen andrerseits bestehen; absichtlich bin ich aber dabei aus weiter unten zu ersehenden Gründen nicht näher auf die Verschiedenheiten der gonialen Kerne *unter sich* eingegangen; diese haben nun ihre Bedeutung im Zusammenhang mit der weiteren Entwicklung der Ei- und Samenzellen (die Elemente des Dotterstocks ziehe ich hier nicht mit in Betracht). In Fig. 52 ist ein Schnitt durch die zwittrige Genitalanlage eines älteren

Embryos (mit Augen und Darm, vgl. BRESSLAU 1904) wiedergegeben: sie liegt noch völlig kompakt dicht hinter dem Pharynx, eine vollkommene Trennung des Ovarial- und des Hodengewebes hat noch nicht stattgefunden und trotzdem fällt schon ein überaus scharfer Gegensatz zwischen den männlichen und weiblichen Keimzellen, den jüngsten Spermato- und Oogonien sofort auf! Das Bild ist nach einem relativ stark differenzierten Eisenhämatoxylinpräparat gezeichnet: die Spermatogonien haben trotz der Differenzierung die Farbe so stark gewahrt, daß in manchen Kernen die fädige Struktur des reichlichen Basichromatins kaum zu erkennen ist: allem Anscheine nach sind nucleoläre Bildungen nicht vorhanden; eine scharfe Membran umschließt den ovalen Kern. In vollkommenem Gegensatz zu ihnen stehen die Oogonien: blasse, vielfach gewundene Stränge, Fäden und Fädchen bilden ein unentwirrbares Ganzes, ja, in manchen Kernen macht der Inhalt eher den Eindruck eines flockigen Gerinnsels, als chromosomaler oder chromosomoider Strukturen; stark tingiert sind dagegen die kleinen, nucleolenartigen Körper von unregelmäßiger Gestalt, die in Mehrzahl jedem dieser Maschenwerke eingelagert sind; außerdem finden sich in großer Menge feine und feinste dunkle Körnchen, die nicht nur die Kerne der Oogonien, sondern auch das umgebende Plasma erfüllen; die Form der Kerne, die durchgängig bedeutend größer sind, als die der Spermatogonien, ist sehr variabel: neben runden treffen wir ovale, polygonale, ja, vollständig unregelmäßig »amöboid« gestaltete an; eine Kernmembran ist nicht vorhanden. (Auf die Teilungsstadien weise ich nur nebenbei hin: beides sind Anschnitte von Äquatorialplatten, in denen die Chromosomen zum Teil schon längsgespalten sind.)

Jetzt, wo wir schon die ganze Entwicklung des Eies von *Mes. ehrenbergi* im speziellen Teil kennen gelernt haben, kann ich auf ein Stadium in ihr hinweisen, das in weitgehender Weise den eben beschriebenen oogonialen Kernen entspricht: das sind die Auxocyten der Fig. 25, 26 und 27: die gleiche Abneigung gegen basische Farbstoffe (Fig. 26), die gleiche Unbestimmtheit der Form (Fig. 27), das Fehlen der Kernmembran (Fig. 25—27) und schließlich das Auftreten stark basophiler Körnchen in Kern und Plasma (Fig. 25 u. 26); ob der eine große Nucleolus der Auxocyte den vielfachen nucleolären Bildungen dieser Oogonien gleichgesetzt werden kann, ist eine Frage, deren positive Beantwortung jedoch jedenfalls nicht ganz von der Hand zu weisen ist.

Welches ist nun die Bedeutung dieser eigenartigen Erscheinung? Vergleichen wir Fig. 52 mit Fig. 1, dem Keimlager eines fertigen Ovariums, so finden wir nichts von den eben geschilderten Strukturen erhalten, wir haben durchaus normale Ruhekerne vor uns; überhaupt wird man in er-

wachsenen Tieren vergeblich nach andern als solchen Kernen suchen. Die Erscheinung ist also ganz vorübergehend und eignet nur den allerjüngsten Oogonien; wir können, glaube ich, diese letzten Worte auch so formulieren: die Ausbildung der indifferenten Genitalzelle zum Oogonium beginnt mit der Entstehung eines »Keimbläschenstadiums«, dessen Erfolg die regere Stoffwechseltätigkeit des Kernes und dank ihr das stärkere Anwachsen des Plasmas ist; wir sehen in der Tat, daß die Oogonien schon kurz nach ihrer Trennung von der Hodenanlage bedeutend reicher an Plasma sind als die männlichen Zellen. Der Bedarf an Plasma ist aber bald gedeckt, denn die Vermehrung der Oogonien ist durchaus keine reiche; immerhin ist sie so stark, daß im fertigen Ovar die Kerne wieder dicht bei einander liegen, sodaß die Notwendigkeit eines vorherigen Plasmazuwachses offensichtlich ist.

Haben wir uns so über die Bedeutung des Phänomens eine Vorstellung bilden können, so fragen wir uns doch vergeblich nach seinen Ursachen. Ich habe nicht umsonst im speziellen Teil den syncytialen Charakter des Ovariums nachdrücklich betont: auch im Embryo bildet die ganze Genitalanlage ein zusammenhängendes großes Syncytium, in dessen Plasma sowohl Spermato- als Oogonienkerne eingebettet liegen: das Plasma macht zunächst in allen seinen Teilen einen gleichförmigen Eindruck und die Veränderungen, die es später im Gebiete der Oogonien erfährt (Fig. 52), sind selbstverständlich durchaus sekundärer Natur, sie sind eine Folge, nicht aber eine Ursache des »Keimbläschenstadiums«; so können wir also nicht im Plasma die Ursache für die differente Entwicklung der Keimzellen suchen. Alle Einwirkungen von außen aber können zu den Kernen nur durch das Plasma gelangen und müßten daher die Gesamtheit der Keimzellen in der gleichen Richtung beeinflußen, da die räumliche Scheidung männlicher und weiblicher Keime noch nicht stattgefunden hat: wenn nun aber, wie wir sehen, die Gonocyten trotzdem verschiedene Wege der Entwicklung einschlagen, so tun sie es augenscheinlich nicht auf äußere Einwirkungen hin, sondern die Ursache dafür muß im Innern der Kerne selber gelegen sein.

Es liegt nahe, entsprechend den Befunden bei Insekten, Nematoden usw., die Ursache in den Chromosomen zu suchen, und so leitet uns unsre Fragestellung zu der zweiten Periode der Keimzellenentwicklung, derjenigen des Wachstums hinüber, in welcher, wie wir sahen, wirklich ein vor den andern ausgezeichnetes Chromosom auftritt: wir hatten es (in Anlehnung an von Winiwarter 1909) als das »Monosom« bezeichnet.

Unser Interesse bei Betrachtung dieser auffallenden Kerne der Oogonien gebührt vor allem auch der Tatsache, daß ein bis in die Einzelheiten

typisches »Keimbläschenstadium« ausgebildet werden kann, ganz unabhängig von vorhergehenden oder nachfolgenden Stadien, wie die Synapsis oder die Diakinese.

2. Das »Monosom« der Oocyten.

Dieses Chromosom wird nur in den Oocyten I und zwar vom »noyau transitoire« bis zum Höhepunkt der Wachstumsperiode beobachtet; weder in den Oogonien, noch in den Reifungsteilungen, noch schließlich in den Furchungszellen und -mitosen konnte es gefunden werden. Es schließt sich durch diese Erscheinungsweise unter allen beschriebenen Heterochromosomenformen allein dem von von Winiwarter und Sainmont (1909) bei der Katze gefundenen Monosom an: die belgischen Forscher bilden es in den Oogonien und in den Oocyten I ab, vom »noyau transitoire« bis zum Anfang der Wachstumsperiode; über seine Natur konnten sie ein abschließendes Urteil nicht fällen, da die Reifungsteilungen von ihnen nicht untersucht wurden; in den Furchungszellen fehlte es.

Textfig. V.



a, erste und *b*, zweite Spermatocytenreifeteilung.

Bei *Mes. ehrenbergi* zeigt es manche Eigenschaften, die es den Heterochromosomen nahe bringen: mit den Chromosomen überhaupt hat es die langgestreckte, auch wohl winklig gebogene Form und die ausgesprochen basische Farbreaktion gemein, die — wie schon erörtert — eine Verwechslung mit dem Nucleolus ausschließen; mit den Heterochromosomen aber die Erscheinungen der Heteropyknose: es differenziert sich schneller aus dem Oocyten-Ruhekern als die Autosomen, ist während der Synapsis stets schärfer umschrieben als diese, zeigt zwar auf der Höhe der Wachstumsperiode eine gewisse Auflockerung, nie aber eine annähernd so starke wie die Autosomen; in allen Stadien seines Auftretens ist es längsgespalten.

Gutherz (1906) hat zur Charakteristik der Heterochromosomen außer der Heteropyknose noch die Heterokinese und die Heterosyndese angeführt; es sei mir gestattet, hier eine Beobachtung aus der Spermatogenese von *Mes. ehrenbergi* herauszugreifen, die in diesem Zusammenhang von Bedeutung ist. In Textfig. V*a* und *b* habe ich die beiden Spermatocytenreifeteilungen dargestellt: in der ersten (*a*) finden sich fünf Doppelchromosomen, deren (echte) Längshälften zu den Polen wandern, aber nicht alle gleichzeitig, denn ein hakenförmiges Chromosoma bleibt dabei

stark zurück und verharrt längere Zeit in dieser Stellung, wenigstens trifft man dieses Bild so häufig und ist es so auffallend, daß schon SCHNEIDER (1873) es abbildete, und auch LUTHER (1905) beschreibt und zeichnet ein solches Stadium von *Mesostoma lingua* (er hält es allerdings für die zweite Reifungsteilung). Die zweite Mitose (*b*) verteilt die Konstituenten der fünf Doppelchromosomen (reduktionell!) auf die beiden Spermatiden, und wiederum hinkt ein Chromosom dabei stark nach. Hier in der Spermatogenese haben wir also die von GUTHERZ geforderte Heterokinese; ich werde aber erst nach genauerem Studium der Spermatogenese sagen können, ob diese abweichend sich verhaltenden Chromosomen in den Ei- und Samenzellen einander korrespondieren oder in welchem Zusammenhange sie stehen und welches ihre Bedeutung definitiv ist; immerhin werden wir durch die Bilder der ♂-Reifeteilungen in unserer Auffassung von der heterochromosomalen Natur des Monosoms bestärkt.

3. Die Synapsis.

Zwei Fragen sind es vor allem, die wir durch die Untersuchung der Synapsis beantworten wollen: 1. entspricht das Bild im Präparat dem natürlichen Zustand oder ist es ein Kunstprodukt der Fixierung? und 2. geht während der Synapsis eine parallele Konjugation der Chromosomen vor sich oder nicht?

Es ist so viel für und gegen das wirkliche Vorhandensein einer Zusammenziehung des Kerninhaltes in den lebenden Zellen geschrieben worden und noch in der neuesten Zeit ist diese Frage von der einen Seite so, von der andern Seite anders entschieden worden (vgl. VEJDOWSKY 1912 und WASSERMANN 1912), daß ich mir füglich ein ausführliches Eingehen darauf ersparen kann. Mein Standpunkt geht wohl schon aus meiner Darstellung im speziellen Teil hervor: ich muß mich unbedingt für das Reelle des Bildes aussprechen, wozu mich nicht allein das ständige Vorkommen in allen untersuchten Ovarien zwingt, sondern vor allem auch die Reihe der Übergangsstadien, die in gesetzmäßiger Folge von den Ruhekernen der Oocyten I zu den Wachstumsstadien der Auxocyten führt: sie kehren in genau der gleichen Weise im röhrenförmigen Ovar hinter einandergeschaltet bei jedem Tiere wieder, was nicht möglich wäre, wenn die Zusammenziehung nur auf dem verschieden schnellen Eindringen der Fixierungsflüssigkeit beruhen würde (vgl. HÄCKER 1907). Ich habe daher im speziellen Teil darauf hingewiesen (s. S. 168), daß ich das synaptische Bild für eine natürliche Folge des raschen Kernwachstums halte; die gleiche Annahme hat auch GATES (1908) für die Synapsis bei Pflanzen gemacht,

wie ich einer Arbeit von Wilson (1912) entnehme (die von Gates war mir leider nicht zugänglich).

Auch die zweite, uns hier interessierende Frage habe ich schon früher berührt (s. S. 169) und für *Mes. ehrenbergi* durch meine Beobachtungen in negativem Sinne entscheiden müssen: die Doppelfäden des pachy-diplotänen Stadiums gehen nicht aus einer parallelen Konjugation der Einzelfäden hervor, sondern sind das Resultat eines Längsspaltungsprozesses in diesen. Meine Gründe für diese Auffassung sind die folgenden: 1. es fehlen vollständig die Übergänge von den einfachen zu den Doppelfäden, die vorhanden sein müßten, wenn es sich um ein allmähliches Aneinanderlagern zweier Fäden handelte; 2. die beiden Konstituenten des Doppelfadens liegen, auch wenn der Längsspalt wieder zu schwinden beginnt, stets dicht bei einander, so daß die folgende Einheitlichkeit der Fäden nicht durch ein Auseinanderweichen und Selbständigwerden der Längshälften, sondern durch ihre Verschmelzung bewirkt wird: trotzdem treten im diakinetischen Kern zehn Chromosomen auf, also nicht die reduzierte, sondern die Normalzahl; 3. die Anzahl der Fäden beträgt im pachy-diplotänen Kern zehn oder mehr, keinesfalls weniger; 4. im diakinetischen Kern mit zehn Chromosomen lassen sich noch Spuren des Längsspaltes nachweisen; 5. in der Prophase erfolgt erst die parallele Konjugation.

Daß diese wieder rückgängig gemachte Längsspaltung für die R. Hertwigsche Auffassung der Synapsis als eines Teilungsversuches des Kernes spricht, braucht kaum besonders hervorgehoben zu werden und ist von Schülern dieses Forschers verschiedentlich betont worden (vgl. Popoff, Wassilieff).

4. Die Wachstumsperiode s. str.

Nachdem vor kurzem in dieser Zeitschrift (Bd. X, 1913) eine ausführliche Mitteilung von Jörgensen erschienen ist, die speziell dieser Periode der Entwicklung gewidmet war, und da ich in meiner Beschreibung seine Befunde im allgemeinen durchaus bestätigen konnte (vgl. S. 171), so darf ich mich hier kurz fassen und nur auf einige, von den Jörgensenschen Beobachtungen abweichende Punkte eingehen.

Jörgensen schreibt seinem »Ergastoplasma II«, d. h. einer basichromatischen Substanz im Cytoplasma des wachsenden Eies, die »spontan im Plasma« auftreten soll, eine wichtige Rolle beim Riesenwachstum des Eies zu; er betont seine extranucleäre Entstehung (l. c. S. 25—26). Dem gegenüber finde ich bei *Mes. ehrenbergi* eine andre Bildungsart des basichromatischen Eiplasmas: hier nimmt es seinen Ursprung aus den »Ab-

schmelzungsnucleolen«, je mehr diese basichromatischen Körper aus dem Kern ins Plasma übertreten und hier zerstäuben, desto mehr steigt die Färbbarkeit des Cytoplasmas mit basischen Farben. Ob diese Chromatintröpfchen wirklich unbrauchbares Material, das aus dem Kern ausgeschieden wird, darstellen, wie es JÖRGENSEN annimmt, erscheint mir daher fraglich; ob sie nicht vielmehr mit der Dotterbildung in Beziehung zu setzen sind (»Trophochromatin«), kann in diesem einzelnen Falle nicht entschieden werden, hier müßten vergleichende Untersuchungen einsetzen.

5. Das Reduktionsproblem.

In seinen zusammenfassenden kritischen Referaten von 1906 und 1910 hat GRÉGOIRE versucht, die Reifungsteilungen, soweit sie aus dem Tier- und Pflanzenreiche bekannt geworden waren, unter ein gemeinsames, das von ihm sogenannte »hetero-homöotypische Schema« zu bringen. Es ist ihm das in weitgehendem Maße geglückt: einige Fälle, die in direktem Widerspruch dazu standen, konnte er durch eigene oder seiner Schüler Nachuntersuchungen richtigstellen, andre als unzulänglich oder nicht überzeugend nachweisen. Trotzdem haben sich seitdem neue abweichende Beschreibungen gefunden, von denen uns im Zusammenhang mit der Eireifung von *Mes. ehrenbergi* vor allen eine interessiert: SCHELLENBERG (1911) hat bei *Fasciola hepatica* einen zweifachen Reifungsmodus gefunden, einen mit Pseudoreduktion und einen ohne solche. Im letzten Falle verläuft die Reifung nach dem Prinzip des von GOLDSCHMIDT (1905) für *Zoogonus mirus* aufgestellten »Primärtypus«, indem in der Metaphase I die 12 Eichromosomen ohne vorhergegangene paarweise Vereinigung zu sechs auf Ei und Richtungskörper verteilt werden, in der Teilung II aber weichen die Längshälften der halben Chromosomenzahl auseinander.

Von allen Fällen von Primärtypus, die beschrieben wurden, ist dieser der einzige, der bisher als gesichert betrachtet werden kann (wir werden selber weiter unten einige Einwendungen gegen ihn machen müssen), denn es liegt nach der Beschreibung von SCHELLENBERG kein Grund vor, die Reduktion nach dem Primärtypus bei *Fasc. hepatica* als pathologisch und nur die mit metasyndetischer Verkoppelung als normal anzusehen. Das erste Beispiel von Primärtypus, der vorerwähnte *Zoogonus mirus*, kann nach den Untersuchungen von GRÉGOIRE (1909) und neuerdings von WASSERMANN (1912) nicht mehr aufrecht erhalten werden; auch *Polystomum integerrimum*, dessen Eireifung man als »primärtypisch« zu bezeichnen versucht sein könnte, bedarf noch dringend der Nachuntersuchung, da GOLDSCHMIDT, (1901) und HALKIN (1901) zu sehr verschie-

denen Resultaten gelangten. Bei Protozoen ist diese Reduktionsart von drei Formen bekannt: *Didinium* (PRANDTL 1906), *Carchesium* (POPOFF 1908) und *Opercularia* (ENRIQUES 1907); abgesehen von der Ungunst des Materials, der Kleinheit und relativ großen Zahl der Chromosomen, die die Beobachtungen außerordentlich erschweren, besitzen eigentlich nur PRANDTLS Abbildungen Überzeugungskraft: doch wird man für die Infusorien noch Bestätigungen an geeigneten Formen abwarten müssen, da z. B. HAMBURGER bei *Paramaecium* (1904) nichts von einer Reduktion der Chromosomen fand.

Rekapitulieren wir zunächst kurz, was wir über die Reduktion bei *Mes. ehrenbergi* feststellen konnten: es differenzieren sich aus dem Kern der Auxocyte zehn diakinetische Chromosomen, die kurz nach Auflösung der Kernmembran paarweise parallel konjugieren, sich dabei aber nur sehr locker vereinigen und nach sehr kurzer Zeit ihre Verbindung wieder vollkommen aufgeben: ein eigentliches Äquatorialplattenstadium existiert nicht, successive wandern die Chromosomen nach den Polen: fünf werden mit dem Richtungskörper ausgeschieden, fünf bleiben im Ei zurück (Reduktionsteilung), spalten sich der Länge nach, stellen sich in die zweite Teilungsspindel ein, und ihre Längshälften werden äquationell auf Richtungskörper und Ei verteilt. Wie schon im speziellen Teil erwähnt, gibt es nun Metaphasen I, in denen die Chromosomen eine deutliche paarweise Zusammengehörigkeit zeigen; wir wären daher versucht, wenn wir nur die prophasischen Konjugationsbilder kennten, sie mit den eben erwähnten Metaphasen zusammen als Beweis dafür anzusehen, daß die Reduktion bei *Mes. ehrenbergi* nach dem GRÉGOIREschen Schema: Präreduktion nach vorausgegangener paralleler Konjugation, erfolgt. Bei dieser Erklärung aber bleiben die späten Prophasen mit Normalzahl der Chromosomen und die »successiven« Metaphasen unberücksichtigt; wir wären daher gezwungen anzunehmen, daß auch ein anderer Weg eingeschlagen werden kann, der im wesentlichen dem Primärtypus von GOLDSCHMIDT entspräche: keine Konjugation, Auseinanderweichen ganz selbständiger Chromosomen in einer der beiden Teilungen.

Wie gesagt, hat SCHELLENBERG einen solchen Fall von zwei Reduktionsmöglichkeiten bei einem Tiere in *Fasc. hepatica* beschrieben; bei *Mes. ehrenbergi* liegt, meiner Ansicht nach, nicht der gleiche Fall vor. Dagegen sprechen vor allem zwei Tatsachen: 1. alle frühen Prophasen zeigen konjugierte Chromosomen, 2. alle späten Prophasen zeigen die Chromosomen getrennt und selbständig; diese Fakta scheinen mir zu beweisen, daß alle Erscheinungen in einen Entwicklungscyklus gehören, der sich, wie folgt, gestaltet: nach einer kurzen und lockeren parallelen

Konjugation (Pseudoreduktion) weichen die Partner wieder ganz auseinander und zeigen entweder gar keine Beziehungen mehr zu einander (»successive« Metaphasen I) oder aber sie dokumentieren ihre gegenseitige Zusammengehörigkeit durch die Anordnung und paarweise Gegenüberstellung in den »simultanen« Metaphasen I.

Durch diese Überlegung werden wir zu der paradox klingenden Anschauung geführt, daß der (scheinbare) Primärtypus von *Mes. ehrenbergi* eine ganz sekundäre Erscheinung ist, indem durch Aufhebung der schon vollzogenen Parallelkonjugation die den Primärtypus kennzeichnende Normalzahl der Chromosomen wieder hergestellt wird.

Der Primärtypus wurde von den Verteidigern der Chromosomenkonjugation hauptsächlich wohl deswegen nicht gern anerkannt, weil in ihm die Möglichkeit der innigen gegenseitigen Beeinflußung der Chromosomen (väterlicher und mütterlicher Herkunft!), die sonst eben durch die paarweise Vereinigung gewährleistet wurde, sich nicht ergab; denn die von Goldschmidt gegebene Definition des Primärtypus lautete (1905): »Keine Pseudoreduktion, im Kern Normalzahl von Chromosomen, die in einer der beiden Reifeteilungen ganz verteilt werden«. Aus den Befunden an *Mes. ehrenbergi* geht hervor, daß im Kern sehr wohl die Normalzahl von Chromosomen vorhanden und doch eine Pseudoreduktion vorausgegangen sein kann. Wir hätten demnach zwischen die beiden Goldschmidtschen Reduktionstypen: *a)* ohne Pseudoreduktion, mit Normalzahl und *b)* mit Pseudoreduktion und halber Chromosomenzahl, einen dritten, vermittelnden Typus einzuschalten: mit temporärer Pseudoreduktion, der sich in der Normalzahl von Chromosomen als primärtypisch erweisen, durch seine parallele Konjugation aber zum Typus *b* gehören würde.

Ich will es hier nicht entscheiden, aber immerhin auf die große Wahrscheinlichkeit hinweisen, daß der Goldschmidtsche Primärtypus bei genauerer Untersuchung in meiner vermittelnden Reduktionsform aufgehen würde: es brauchten nur die kurz dauernden und daher seltenen Stadien der temporären Pseudoreduktion übersehen zu sein! Auf die Möglichkeit dieser Annahme weist besonders auch die Schellenbergsche Beschreibung hin, der bei *Fasc. hepatica* die Typen *a* und *b* fand, aber ausdrücklich betont, daß die Intensität der Konjugation sehr variabel sein kann, so daß im Verlauf der I. Reifungsteilung ganz verschiedene Chromosomenzahlen auftreten (l. c. S. 469—470). *Fasc. hepatica* und *Mes. ehrenbergi* unterscheiden sich demnach folgendermaßen: bei dem letzten findet stets eine Pseudoreduktion statt, die aber rückgängig gemacht wird: bei der ersten kommt es entweder zu einer Pseudoreduktion, die

erhalten bleibt, oder sie fehlt ganz, oder aber die Chromosomen konjugieren zu einem Teil, zum andern nicht. Daß eine stattgehabte Konjugation wieder rückgängig gemacht werden könnte, hält SCHELLENBERG für »wenig wahrscheinlich«; die im übrigen sehr ähnlichen Verhältnisse bei *Mesostoma ehrenbergi*, wo ich die Aufhebung der Konjugation als Regel feststellen konnte, lassen mich auch bei *Fasc. hepatica* das gleiche für wahrscheinlich halten.

Zusammenfassung.

1. Das Keimlager des Ovariums von *Mes. ehrenbergi* stellt ein Syncytium dar: Mitosen werden in ihm nicht selten beobachtet.

2. Die Oocyten I machen ein synaptisches Stadium durch, im Verlauf dessen ein Längsspalt in den Chromosomen auftritt, der bald wieder verschwindet. Eine Konjugation findet nicht statt.

3. Während der Wachstumsperiode s. str. geht ein lebhafter Stoffaustausch zwischen Kern und Plasma vor, die Kernmembran ist aufgelöst, Abschmelzungsnucleolen wandern aus dem Kern ins Plasma ein.

4. Das JÖRGENSENsche Gesetz »von der umgekehrten Reaktion der Kernkomponenten« während des Eiwachstums gilt für *Mes. ehrenbergi* vollkommen.

5. Im diakinetischen Kern tritt die Normalzahl der Chromosomen auf (zehn).

6. In der frühsten Prophase findet eine temporäre Parallelkonjugation statt, die bald vollkommen wieder rückgängig gemacht wird.

7. Die I. Reifeteilung ist reduktionell, d. h. trennt ganze. und zwar selbständige Chromosomen von einander (Pseudo- oder sekundärer Primärtypus).

8. Die Chromosomen des Eikerns gehen ohne Ruhestadium zur II. Teilung über, die äquatoniell verläuft.

9. In der zwittrigen Genitalanlage beginnt die Trennung der männlichen und weiblichen Keimzellen mit einem »Keimbläschenstadium« dieser letzten. Vielleicht spielt bei der geschlechtlichen Differenzierung der indifferenten Keimzellen das als »Monosom« charakterisierte Chromosom der Oocyten eine Rolle.

Straßburg, 1. August 1913.

Literaturverzeichnis.

Boveri, Th. Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkernes. Jena 1904.

Bresslau, E. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Turbellarien I. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXVI. 1904.

—— Über die Sichtbarkeit der Centrosomen in lebenden Zellen. Zool. Anz. Bd. XXXV. 1909.

Enriques, P. La coniugazione ed il differenziamento sessuale negli Infusori. Arch. f. Protistk. Bd. IX. 1907.

*Gates, R. R. A study on reduction in Oenothera rubrinervis. Bot. Gaz. Vol. XLVI. 1908.

Goldschmidt, R. Untersuchungen über die Eireifung, Befruchtung und Zellteilung bei Polystomum integerrimum Rud. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXI. 1902.

—— Über das Verhalten des Chromatins bei der Eireifung und Befruchtung des Dicrocoelium lanceatum Stil. et Hass. (Distomum lanceolatum). Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.

—— Eireifung, Befruchtung und Embryonalentwicklung des Zoogonus mirus Lss. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXI. 1905.

Graff, L. von. Monographie der Turbellarien. I. Rhabdocoelida. Leipzig 1882.

—— Turbellaria. Bronns Kl. u. Ordn. Bd. IV. 1904—1908.

Grégoire, V. Les cinèses de maturation dans les deux règnes. La Cellule. T. XXII et XXVI. 1905 et 1910.

—— La réduction dans le Zoogonus mirus Lss. et le »Primärtypus«. La Cellule. T. XXV. 1909.

Gutherz, S. Zur Kenntnis der Heterochromosomen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXIX. 1906.

Häcker, V. Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. Ergebn. u. Fortschr. d. Zool. Bd. I. 1907.

—— Ergebnisse und Ausblicke in der Keimzellenforschung. Zeitschr. f. ind. Abstamm. und Vererbungsl. Bd. III. 1910.

Halkin, H. Recherches sur la maturation, la fécondation et le développement du Polystomum integerrimum. Arch. Biol. T. XVIII. 1902.

Hallez, P. Contributions à l'histoire naturelle des Turbellariées. Lille 1879.

—— Paravortex cardii n. sp. Arch. de Zool. exp. et génér. Sér. 4. T. IX. 1909.

Hamburger, Cl. Die Konjugation von Paramaecium bursaria Focke. Arch. f. Protistenk. Bd. IV. 1904.

Jörgensen, M. Zellenstudien I. Arch. f. Zellforsch. Bd. X. 1913.

Korschelt und Heider. Lehrbuch der vergl. Entwicklungsgesch. der wirbellosen Tiere. Allg. Teil. Jena 1902.

Lubosch, W. Über den gegenwärtigen Stand der Lehre von der Eireifung. Anat. Anz. Erg.-Heft zu Bd. XLI. 1912.

Lundegårdh. Das Karyotin im Ruhekern. Arch. f. Zellforsch. Bd. IX. 1912.

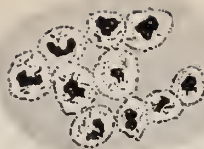
Luther, A. Die Eumesostominen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXVII. 1904.

—— Zur Kenntnis der Gattung Macrostoma. Festschrift f. Palmén. 1905—1907.



Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin.

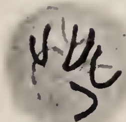

4


5

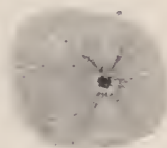

6a


6b

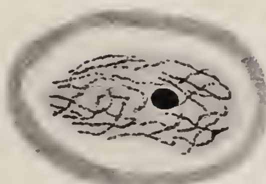

10a

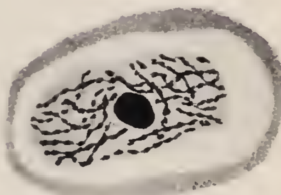

10b

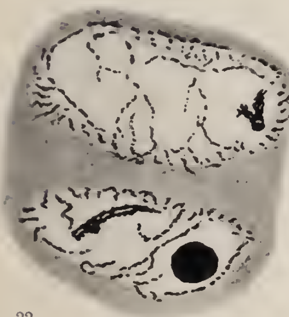

11


12

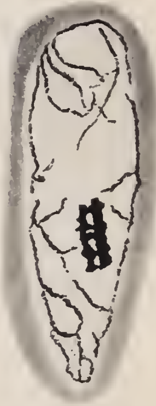

16

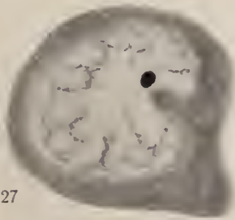

17

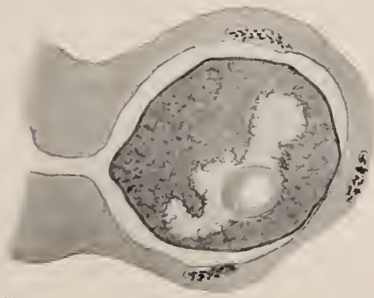

18

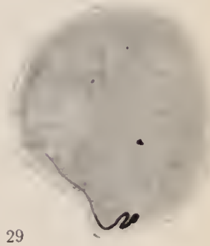

22


23


24

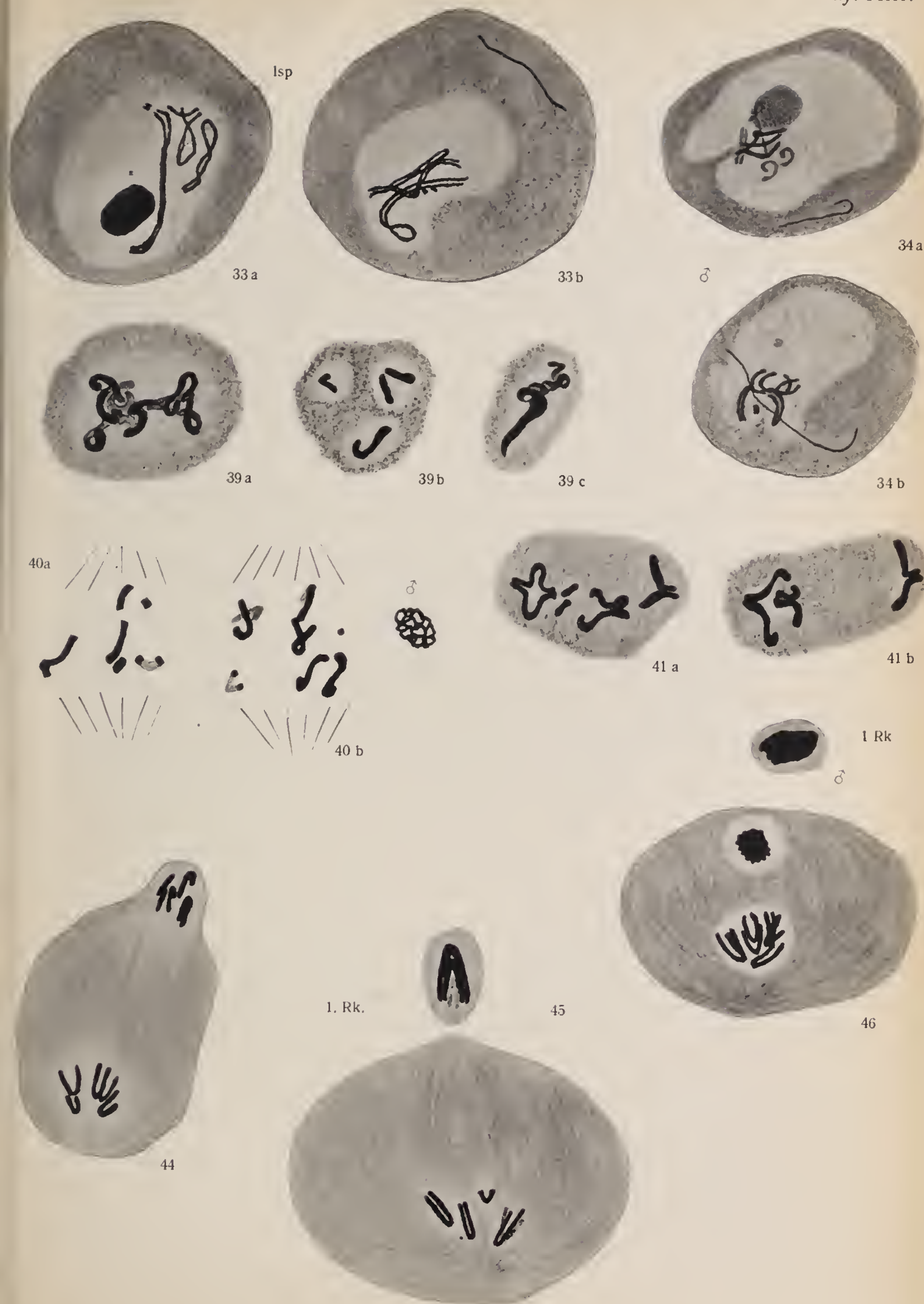

27


28


29



Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin.


lsp
33 a
33 b
34 a
♂
34 b
39 a
39 b
39 c
40a
♂
40 b
41 a
41 b
1 Rk
♂
1. Rk.
44
45
46

Mattiessen, E. Ein Beitrag zur Embryologie der Süßwasserdendrocoelen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXVII. 1904.

Oettinger, R. Znr Kenntnis der Spermatogenese bei den Myriopoden. Arch. f. Zellforsch. Bd. III. 1909.

Popoff, M. Eibildung bei Paludina vivipara usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX. 1907.

—— Die Gametenbildung und die Konjugation von Carchesium polypinum. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXIX. 1908.

Prandtl, H. Die Konjugation von Didinium nasutum O. F. M. Arch. f. Protistenk. Bd. VII. 1906.

Schellenberg, A. Ovogenese, Eireifung und Befruchtung von Fasciola hepatica L. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1911.

Schneider, Ant. Untersnchungen über Plathelminthen. Gießen 1873.

—— Das Ei und seine Befruchtung. Breslau 1883.

Vejdowsky, F. Zum Problem der Vererbungsträger. Verh. d. k. böhm. Ges. d. Wiss. Prag. 1912.

Voss, H. von. Beitrag zur Kenntnis der Eireifung bei den Acanthocephalen. Arch. f. Zellforsch. Bd. V. 1910.

Wassermann, Fr. Zur Eireifung von Zoogonus mirus, ein Beitrag zur Synapsisfrage. Anat. Anz. Erg.-Heft zu Bd. XLI. 1912.

Wassilieff, W. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX. 1907.

Weiss, A. Beiträge zur Kenntnis der australischen Turbellarien. II. Rhabdocoelida. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCVI. 1910.

Wilson, E. B. Studies on Chromosomes VIII. Journ. of exp. Zool. Vol. XIII. 1912.

Winiwarter, H. von et G. Sainmont. Nouvelles recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des Mammifères. Arch. Biol. Vol. XXIV. 1909.

Die mit einem * versehenen Arbeiten waren mir nicht zugänglich.

Tafelerklärung.

Alle Figuren sind auf Objekttischhöhe mit dem Abbeschen Zeichenapparat unter Benutzung von Zeiss' Apochr. Imm. 2 mm Apert. 1,30 und den Leitzschen Komp.-Ocularen 4, 6 und 12 entworfen. Die Vergrößerungen, ebenso wie Färbung, Fixierung und Dicke des Schnittes sind bei jeder Figur angegeben.

Tafel XII.

Von den Oogonien bis zur Besamung.

Fig. 1. Schnitt durch das Keimlager (*ov*) und einen daneben liegenden Teil des Dotterstocks (*do*). Subl.-Eisessig, Kleinenb. Hämat. 10 μ. 700×.

Fig. 2*a*. Oogonienruhekern. Tellyesniczky, Eisenhämatox.-Eosin. 10 μ. 1050×.

Fig. 2*b*. Ausbildung der Chromosomen in der Oogonie. Tellyesniczky, Eisenhämat.-Eosin. 10 μ. 1050×.

Fig. 3. Äquatorialplatte einer Oogonienteilung. Tellyesn. Eisenhäm.-Orange-G. 10 μ. 1050×.

Fig. 4. Nucleolus in der Äquatorialplatte einer Oogonienteilung. Tellyesn. Eisenhäm.-Eosin. 10 μ. 1050×.

Fig. 5. Karyomerenkern aus dem Ovar. Subl.-Eisessig, Kleinenb. Hämat. 10 μ. 2100×.

Fig. 6*a*. Diakinese einer Oogonie. Tellyesn. Eisenhämatox.-Eosin. 10 μ. 2100×.

Fig. 6*b*. Degenerierende Oogonie. Tellyesn. Eisenhämatox.-Eosin. 10 μ. 2100×.

Fig. 7. Äquätorialplatte einer Oogonienteilung. Tellyesn. Eisenhäm.-Orange G. 10 μ. 2100×.

Fig. 8*a* und *b*. Zwei Schnitte durch dieselbe Äquatorialplatte. Subl.-Eis., Kleinenb. Häm. 10 μ. 1050×.

Fig. 9*a* und *b*. Oogonienteilung, Centrosom. Zenker. Eisenhäm.-Orange G. 10 μ. 1050×.

Fig. 10*a* und *b*. Oogonienteilung, Prophase, zwei Centrosomen. Zenker. Eisenhäm.-Orange G. 10 μ. 1050×.

Fig. 11. Oogonienteilung, Metaphase. Zenker. Eisenhäm.-Orange G. 5 μ. 1050×.

Fig. 12. Centrosom einer Oogonie mit Centriol. Subl.-Alk.-Eis. Eisenhäm.-Orange G. 5 μ. 2100×.

Fig. 13. Oocyte: «noyau transitoire». Zenker. Eisenhäm.-Orange G. 5 μ. 2100×.

Fig. 14. «Noyau transitoire»: erster Beginn der Orientierung der Schleifen. Monosom. Zenker. Eisenhäm.-Orange G. 5 μ. 2100×.

Fig 15*a*. Präsynapsis; ausnahmsweise zwei Nucleolen. Monosom. Zenker. Eisenhämat. 5 μ. 2100×.

Fig. 15*b*. Synapsis. Monosom. Beginn der pachytänen Schleifen. Zenker. Eisenhämat. 5 μ. 2100×.

Fig. 16. Präsynapsis. Monosom. Zenker. Eisenhäm. 5 μ. 2100×.

Fig. 17. Synapsis. Leptonema. Tellyesn. Eisenhäm. 5 μ. 2100×.

Fig. 18. Synapsis. Beginn der pachytänen Schleifen. Tellyesn. Eisenhämat. 5 μ. 2100×.

Fig. 19. Postsynapsis. Fortschreitendes Dickerwerden der Schleifen. Subl.-Alk.-Eis. Eisenhämat.-Lichtgrün. 5 μ. 2100×.

Fig. 20. Pachy-diplotäne Schleifen. Zenker. Eisenhäm.-Orange G. 5 μ. 2100×.

Fig. 21. Letzte Spuren der Orientierung und des Längsspaltes. Monosom. Zenker. Eisenhämat. 5 μ. 2100×.

Fig. 22. Auxocyten. Kernmembran aufgelöst. Monosom. Tellyesn. Eisenhämat. 10 μ. 1050×.

Fig. 23. Auxocyten. Abschmelzungsnucleolen. Zenker. Kleinenberg. Hämat. 10 μ. 1050×.

Fig. 24. Auxocyte. Längsschnitt. Monosom. Zenker. Safranin. 10 μ. 1050×.

Fig. 25. Auxocyten. Längsschnitt. Subl.-Alk.-Eis. Eisenhäm.-Lichtgrün. 5 μ. 700×.

Fig. 26. Auxocyte. Querschnitt. Flemming. Safranin-Lichtgrün. 10 μ. 1050×.

Fig. 27. Auxocyte. Amöboider Kern. Tellyesn. Eisenhäm. 10 μ. 700×.

Fig. 28. Besamtes Ei im Endteil des Ovidukts, mit Befruchtungsmembran. Tellyesn. Boraxcarmin. 10 μ. 700×.

Fig. 29. Besamtes Ei mit Spermatozoon und Befruchtungsmembran. Tellyesn. Eisenhäm. 10 μ. 700×.

Tafel XIII.

I. Reifeteilung.

Fig. 30. Querschnitt durch einen »Glockenkern«. Tellyesn. Eisenhäm. 10 μ. 1050×.

Fig. 31. Längsschnitt durch einen »Glockenkern«. Tellyesn. Eisenhäm. 10 μ. 1050×.

Fig. 32*a* und *b*. Beginn der Diakinese. Zwei aufeinanderfolgende Schnitte durch dasselbe Ei. Zenker. Brasilin. 10 μ. 1050×.

Fig. 33*a* und *b*. Zwei Schnitte durch dasselbe Ei. Diakinese; bei *lsp* Rest des synaptischen Längsspaltes. Zenker. Eisenhäm. 10 μ. 1050×.

Fig. 34*a* und *b*. Zwei Schnitte durch dasselbe Ei. Diakinese. Subl.-Eisessig. Ehrlichs Hämat. 10 μ. 1050×.

Fig. 35. Prophase I. Konjugation. Es ist, ebenso wie in Fig. 36, nur ein kleiner Teil des Eies, der die Chromosomen enthält, gezeichnet. Subl.-Eisessig. Ehrlichs Hämat. 10 μ. 1050×.

Fig. 36. Prophase I. Konjugation. Subl.-Eisessig. Kleinenberg. Häm. 10 μ. 1050×.

Fig. 37*a*, *b*, *c*. Drei Schnitte durch dasselbe Ei, in *a* und *c* nur das Chromatin gezeichnet. Prophase I. Konjugation geht zurück. Subl.-Eisessig. Eisenhäm.-Orange G. 5 μ. 1050 ×.

Fig. 38*a*—*d*. Vier Schnitte durch dasselbe Ei; in *a* das Spermatozoon. Späte Prophase I. Konjugation völlig aufgehoben. Zenker. Eisenhäm. 10 μ. 1050×.

Fig. 39*a*—*c*. Drei Schnitte durch dasselbe Ei; in *c* das Spermatozoon. Späte Prophase I. Subl.-Eisessig. Kleinenberg. Häm. 10 μ. 1050×.

Fig. 40*a* und *b*. Zwei Schnitte durch dasselbe Ei. Beginnende »successive« Metaphase. Tellyesn. Hämat. n. Delafield. 10 μ. 1050× (Strahlung schematisch).

Fig. 41*a* und *b*. Zwei Schnitte durch dasselbe Ei. »Simultane« Metaphase I. Zenker. Kleinenberg. Hämat. 10 μ. 1050×.

Fig. 42*a*—*c*. Drei Schnitte durch dasselbe Ei. Metaphase I. Zenker. Brasilin. 10 μ. 1050×.

Fig. 43*a* und *b*. Zwei Schnitte durch dasselbe Ei. Späte Metaphase I. Tellyesn. Kleinenberg. Hämat. 10 μ. 1050×.

Fig. 44. Anaphase I. Tellyesn. Eisenhäm. 10 μ. 1050×.

Fig. 45. Telophase I. *RK* = 1. Richtungskörper. Das kleine Chromosom im Ei ist aus dem nächsten Schnitt ergänzt. Zenker. Kleinenberg. Hämat. 10 μ. 1050×.

Fig. 46. Telophase I. — Prophase II. Chromosomen II zum Teil schon längsgespalten. Tellyesn. Eisenhäm. 10 μ. 1050×.

Tafel XIV.

II. Reifeteilung.

Fig. 47*a* und *b*. Zwei Schnitte durch dasselbe Ei. Frühe Metaphase II. Tellyesn. Eisenhäm. 10 μ. 1050 ×.

Fig. 48. Anaphase II. Aus zwei Schnitten kombiniert. ZENKER. KLEINENBERG. Hämat. 10 μ. 1050×.

Fig. 49 *a—c*. Drei Schnitte durch dasselbe Ei. *a* = Spermakern, *b* = Chromosomen des Eikerns, *c* = die beiden Richtungskörper. ZENKER. KLEINENBERG. Hämat. 10 μ. 1050×.

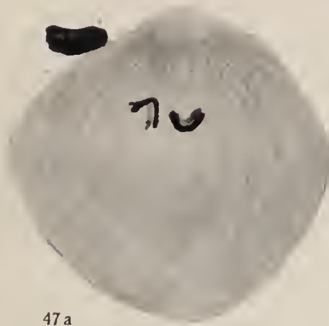
Fig. 50 *a* und *b*. Zwei Schnitte durch dasselbe Ei. Telophase II. Beginn der Chromosomenauflockerung zur Bildung des ♀ Vorkerns. ZENKER. KLEINENBERG. Hämat. 10 μ. 1050×.

Fig. 51. »Pseudotetraden« der Metaphase II. Subl.-Alk.-Eisessig. Eisenhäm.-Orange-G. 10 μ. 1050×.

Fig. 52. Schnitt durch die ⚥ Genitalanlage eines älteren Embryos. TELLYESN. Eisenhäm. 6 μ. 1050×.

---

1. Rk.


47 a

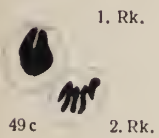

47 b



49 a

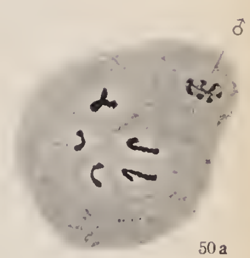

49 b

1. Rk.

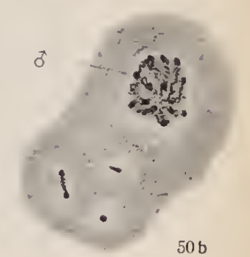

49 c 2. Rk.

1. Rk.


48

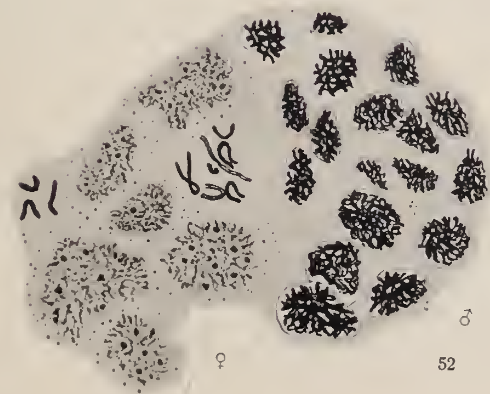


50 a



50 b


51



52

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin.

Ulteriori ricerche sulla granulosa del follicolo ovarico nei Mammiferi (Cagna).

Del

Dott. **Bruno Monterosso**
(Aiuto).

(Istituto di Zoologia e Anatomia comparata della R. Università di Catania.)

Con tavole XV—XVI.

Materiale e metodi tecnici.

Il materiale adoperato nelle presenti ricerche consisteva in ovaie di Cagne adulte, fissate in liquidi svariatissimi e colorate sulle sezioni con i più delicati e precisi metodi che la tecnica istologica oggi ci appresta. Non fu escluso lo studio della granulosa a fresco o dopo dissociazione con alcool, ovvero con OsO_4, secondo i procedimenti e i criteri descritti in altra precedente memoria (1912), ai quali del resto fu necessario portare qualche lieve modificazione, soprattutto nel tempo di immersione dei follicoli dentro ai liquidi maceratori.

In complesso posso affermare che l'ovaia di cagna è il più difficile materiale che abbia trovato nei Mammiferi, quanto alla preparazione, specie per la durezza che offre al taglio e per la friabilità grandissima dell' ooplasma.

Follicoli primordiali.

Nell'ovaia di Cagna adulta, le cellule ovariche più giovani che possano rinvenirsi, sono degli elementi a nucleo deutobroco, quindi secondo le ricerche di v. Winiwarter (1908), von Winiwarter e Sainmont (1909) e di altri, da oociti in fase di accrescimento. Mancano, secondo le mie osservazioni, i nuclei polverosi e transitorii, che giusto gli studi di v. Winiwarter e Sainmont (1909) e di R. van der Stricht (1911) rappresentano nella Gatta i primi stadi dell'oocite in crescita.

Il nucleo deutobroco presenta aspetti vari, a seconda dello stadio che attraversa nell'oogenesi. Nella forma più primitiva é costituito da un reticolato sottile di linina, portante minuti granuli di sostanza cromatica, dei quali alcuni più grossi son posti attorno al nucleolo o sono addirittura addossati ad esso.

Il nucleolo è per lo più centrale e mostra nelle sezioni colorate col metodo del Flemming (Saffranina-Violetto di Genziana-Orange G) una spiccata tinta rossa, mentre la cromatina nucleare è azzurra. L'ooplasma, poco abbondante è ricoperto d'una sottilissima membrana, talvolta irregolare. In esso, presso al nucleo si trova una zona di sostanza fortemente colorata dal metodo Benda-Van der Stricht (couche vitellogène della scuola belga) compatta, occupante talvolta tutto l'ovoplasma. Nonostante speciali ricerche mi è stato impossibile trovare in essa un nucleo vitellino (corpo di Balbiani). Piuttosto è frequente la presenza di qualche granulo osmioriduttore.

Descritta così la struttura dell'oocite onde caratterizzarlo nel periodo più giovane, vediamo qual sia la forma della granulosa. Veramente ancora non si può parlare di una granulosa vera e propria (Fig. 1). Solo, intorno alla membrana ovulare, tra questa e il connettivo ovarico, si nota qualche grosso nucleo irregolare, schiacciato per lo più secondo un piano tangenziale al follicolo. Moltissimi Autori hanno dato a tali elementi il nome di cellule, e ciò a torto, inquantochè essi sono veri nuclei contenuti da una sostanza di natura protoplasmatica, nella quale mancano affatto dei limiti cellulari e che giustamente da taluni osservatori e trattatisti è stato raffigurata come un simplasto.

Tali nuclei mostrano caratteri addirittura primitivi, appartenendo al tipo protobroco (Fig. 2 *a—c*). Essi hanno generalmente forma pianoconvessa, con un asse più lungo e l'altro più corto; tali assi non avendo, rispetto alla membrana ovulare, lo stesso orientamento, la sezione capita secondo piani sempre diversi; il che fa apparire il loro polimorfismo più accentuato. In questo stadio si trovano sezioni di follicoli senza alcuno di questi nuclei. Ciò dipende dal fatto che nemmeno uno è stato compreso nel taglio, come del resto può vedersi nelle sezioni in serie.

Follicoli giovani.

Negli stadi ulteriori dello sviluppo follicolare, mentre i granuli di cromatina del nucleo oocitario si fanno più numerosi sul reticolo di linina e la zona vitellogena si restringe a semicerchio, prima di dissolversi, gli elementi della granulosa crescono di numero, cosicchè da 3—4 che erano

nella sezione di un follicolo, diventano 8—10 e anche più, finchè riempiono tutto lo spazio anulare compreso tra la membrana oocitaria e il connettivo ovarico (Fig. 3) anch'esso delimitato, verso l'oocite, da una sottilissima membranella sulla cui natura non potrei dir nulla, per mancanza di specifiche osservazioni. La figura follicolare che finisco di descrivere, è stata chiamato dagli Osservatori e dai Trattatisti «follicolo a granulosa monostratificata». Tale denominazione mi sembra poco esatta, soprattutto perchè la granulosa per la sua struttura sinciziale non costituisce ancora un vero tessuto. Inoltre, lo stadio seguente, in cui si compie la differenziazione cellulare della granulosa, ricevendo la stessa denominazione, si vengono a confondere due fasi ben distinte e due strutture di valore indiscutibilmente diverso[1]). Difatti quando attorno a ciascun nucleo si differenzia un citoplasma, il follicolo presenta caratteri nuovi, ben differenti da quelli dello stadio che precede immediatamente. Tali caratteri si possono così riassumere: distinzione d'una vera e propria membrana di Slawiansky (membrana propria folliculi); zona vitellogena ridotta a una specie di cappuccio, ricoprente un polo del nucleo, o a un anello perinucleare più o meno regolare; apparato cromatico della vescicola germinativa costituito da filamenti meglio differenziati, nei quali comincia a manifestarsi una orientazione verso il nucleolo. Gli elementi della granulosa ora sono delle vere e proprie cellule, con nuclei più rotondeggianti, più colorati, contenenti un nucleolo di dimensioni maggiori e un numero ben più grande di corpuscoli cromatici, i quali non sono puntiformi, come nello stadio precedente, ma in maggior parte sono dei granuli di forma irregolare o allungata. L'oocite infine, presenta un diametro maggiore e una forma più perfettamente sferica. Di più questo stadio dà luogo a un fenomeno importante che consiste nell'avvicinamento di tutti i nuclei della granulosa verso la membrana di Slawiansky. Contemporaneamente, le cellule della granulosa incominciano ad assumere una forma cilindrica, con la base distale (poggiante sulla membrana propria folliculi e contenente il nucleo) più larga, e la base prossimale (poggiante sulla membrana che circonda l'oocite) più ristretta (Fig. 4).

Follicolo a granulosa bistratificata.

Dalla forma or ora descritta, nell' ulteriore sviluppo ha origine il follicolo detto «con granulosa bistratificata». Stadi di passaggio fra

---

[1]) A vero dire, molti autori distinguono nel cosidetto follicolo monostratificato, gli stadi a cellule piatte, a cellule cubiche, a cellule cilindriche; queste denominazioni per quanto corrispondano talvolta, non sono poi talmente definite da essere tassative — nè, come ho detto, si tratta di vere cellule —.

l'una e l'altra forma rappresentano i follicoli con granulosa costituita da un'unica assisa cellulare e in cui alcuni nuclei hanno abbandonata la posizione distale spingendosi verso la porzione prossimale dell'elemento cellulare cui appartengono, come si vede nella Fig. 4*a*[1]). Però i nuclei dello stesso follicolo non eseguono tutti contemporaneamente lo stesso movimento, per cui ad un certo punto essi vengono a porsi su due linee più o meno regolari, che si estendono quasi parallelamente, una presso la membrana follicolare, l'altra presso la membrana vitellina (Fig. 5). Corrispondentemente a tale fenomeno nucleare, gli elementi cellulari della granulosa i cui nuclei hanno assunto la posizione prossimale restano costituiti da un corpo protoplasmico filare, che porta un ingrossamento nella porzione superiore nucleata, il cui limite conserva un diretto contatto con la membrana ovulare (Fig. 6*a*). L'estremo opposto (distale) è più sottile e poggia sulla membrana propria folliculi. Anche le altre cellule (Fig. 6*b*) il cui nucleo è rimasto verso la parte distale, hanno la figura filamentosa e clavata, ma la regione più sottile poggia sulla membrana ovulare, mentre la regione opposta, nucleata e più larga è a contatto con la membrana di Slawiansky. È importante notare che i nuclei dello strato distale e quelli del prossimale hanno fra di loro una posizione alternata, come nella Fig. 5, Tav. XV.

Che tale figura[2]) non dipenda nè dal soggetto studiato nè dalla tecnica adoperata, riuscirà più evidente, ove si tenga presente che molti Autori, pur dando in questo stadio alla granulosa, l'appellativo di «bistratificata» hanno figurato dei follicoli simili per la conformazione a quelli or ora descritti. Basterà richiamare le Figg. 6, 11, 13 di Retzius (1912) per l'ovaia di Coniglio e Pipistrello.

Moltiplicazione delle cellule della granulosa.

Harz (1883) e Flemming (1885)[3]) negarono d'aver visto nei follicoli, cellule della granulosa in processo cinetico. Contro la loro affermazione sorse Paladino (1887) il quale difese strenuamente la tesi della moltiplicazione di dette cellule per processo mitotico, e figurò anche (Tav. V, Fig. 40) il follicolo «monostratificato» d'una Cagnetta di 10 giorni, con una cellula della granulosa in cariocinesi. Confesso di non aver esaminato

---

[1]) Vedi la Microfotografia 58 Tav. XVI della memoria di R. van der Stricht (1911) e la fig. 3a, pag. 206, della Nota di A. Russo (1912).

[2]) Mc Leod (1880) notò già questa figura in *Vesperugo*, nel quale la granulosa — secondo lo stesso A. è normalmente bistratificata.

[3]) Citati da Paladino (1887).

ovaie di Cagne di piccola età; posso però affermare che in migliaia di follicoli appartenenti a soggetti tutti adulti e osservati a questo precipuo scopo, non si diede il caso di trovare nemmeno una figura cariocinetica[1]). Devo subito dire che l'esistenza di processi mitotici è facilmente constatabile nei follicoli già abbastanza avanti nello sviluppo, e contenenti un antro follicolare già costituito o in principio di formazione. Ora, se consideriamo che le cellule della granulosa in realtà aumentano sensibilmente di numero, nel passaggio dal cosidetto follicolo monostratificato al pluristratificato, dovremmo, ove fosse la cariocinesi il mezzo di tale aumento, osservarne di molte. L'argomento, a mio parere di somma importanza, mi spinse a cercare attentamente il sistema di moltiplicazione cellulare che si avvera nella granulosa, durante l'istogenesi follicolare. Sono stato tratto infine a considerare le pieghe, che tutti gli Aa. senza darvi importanza alcuna, almeno a tal riguardo, hanno dimostrato e figurato nei nuclei della granulosa. Tali pieghe sono per lo più molto strette, in guisa che i lembi della piega stessa sono addossati uno all'altro. Le pieghe sono più o men profonde e frequentemente ve ne hanno che attraversano quasi tutto il corpo nucleare. Infine qualche nucleo è attraversato dalla piega in tutta l'estensione, e si può interpretare come costituito già da due nuclei figli, rimasti ancora in contatto, come si può vedere dalla Fig. 7[2]).

È notevole il fatto che le piegature di cui si parla, oltre a presentarsi sempre nell'istesso modo, seguendo cioè un processo costante e regolare, in certi momenti determinati della istogenesi follicolare, hanno di norma una direzione ben definita, producendosi secondo un piano perpendicolare alla membrana vitrea. Questo fenomeno, mentre si accorda con il fatto della monostratificazione della granulosa, in quanto se la divisione dei nuclei per delaminazione (clivaggio) avvenisse parallelamente alla membrana propria, si avrebbero follicoli con granulosa bistratificata, dimostra d'altra parte il processo per cui da pochi nuclei sparsi nel simplasto primitivo della granulosa, possano costituirsene molti, che riempiano tutto lo strato esistente tra l'ovo e il connettivo ovarico. Difatti il numero di queste divisioni è più grande proprio quando la granulosa ha struttura sinciziale. Tuttavia appaiono, sebbene più radi, anche negli stadi che ulteriormente attraversa il follicolo. Pare che da quel primo momento ci sia una sosta più o meno completa nella moltiplicazione degli elementi

---

[1]) Devo aggiungere d'aver trovato due follicoli giovani con una cariocinesi nelle cellule della granulosa; ma l'ooplasma e il nucleo di essi avevano caratteri degenerativi.

[2]) Su questa scissione per delaminazione vedi il recente lavoro di H. E. Jordan (1913) che l'ha osservato nelle cellule dell'Epididimo del Topo.

della granulosa. E difatti si può provare anche con un esame attento, che dal momento in cui la granulosa assume l'aspetto di un tessuto cellulare, fino a poco prima di apparire il liquor folliculi, il numero delle cellule resta sensibilmente fisso. e forse immutato.

Prima di por termine alla descrizione dei fenomeni nucleari della granulosa, vuolsi accennare al comportamento d'un corpo speciale che spesso si trova in questi stadi dentro al nucleo, come indicano le Fig. 8. Si tratta d'un corpo che presenta forme spesso vistose e diverse e si colora colle tinte nucleari — per cui dimostra natura differente di quella del nucleolo.

Follicolo a granulosa polistratificata.

Osservando attentamente in buoni preparati la granulosa dei cosidetti follicoli a tre linee cellulari, si nota facilmente che dette cellule si possono, quanto alla loro forma, distinguere in due tipi: cellule clavate (Fig. 9 *a*, *c*) che sono cilindriche, con un estremo ingrossato contenente il nucleo; e cellule filiformi (Fig. 9 *b*) con il nucleo a metà del loro corpo citoplasmico. Gli elementi di tutti e due i tipi vanno costantemente dalla superficie dell'oocite alla membrana vitrea, attraversando interamente lo spazio compreso fra di queste (Fig. 10).

Le cellule clavate, molto simili per forma a quelle descritte nel maiale, hanno ancora, come nel follicolo bistratificato, l'estremo filiforme poggiante sulla membrana propria del follicolo o sulla membrana ovulare e corrispondentemente, l'estremo ingrossato sulla parete dell'ooplasma o sulla vitrea. Ora, in un preparato in cui i limiti cellulari degli elementi della granulosa sono poco distinti, la granulosa sembra costituita da tre strati di cellule — invece si tratta, come scorgesi nella Fig. 10, di un tessuto monostratificato, costituito da elementi fondamentalmente simili, con nucleo in tre posizioni diverse, e quindi su tre linee quasi regolarmente concentriche.

Procedendo l'istogenesi del follicolo oltre allo stadio che finisco di descrivere, e diventando le cellule sempre più filiformi e sottili, non è più agevole vedere distintamente gli estremi di ciascuna cellula, val quanto dire, la cellula nella sua interezza. Inoltre, siccome i nuclei non restano su linee concentriche, ma avanzando alcuni più, altri meno, assumono posizioni diverse uno rispetto all'altro, così la granulosa sembra realmente polistratificata. Difatti in questi stadi non si può dire se le linee dei nuclei sian quattro o più. L'osservazione però rende legittimo affermare che il tessuto è ancora costituito da un solo strato di cellule allungate, perchè anzitutto mancano figure di moltiplicazione, sia amitotica

che cariocinetica, e in secondo luogo perchè l'analogia con gli stadi precedenti e soprattutto lo studio di certe sezioni adatte, mostrano trattarsi di un tessuto semplice.

Interpretazione dei fenomeni descritti.

Senza pretendere d'entrare nell'intimo determinismo dei fenomeni osservati, a che forse il follicolo di Cagna si presta poco, basandoci sui dati di fatto avuti nel follicolo del Maiale (1912) e sulla presenza, anche in quello che fa oggetto delle presenti ricerche, di materiali speciali, nelle cellule della granulosa, credo legittima la seguente interpretazione. Appena differenziatesi le cellule della granulosa, i nuclei scendono fino alla membrana propria. Allora il protoplasma si colora maggiormente, mentre all'estremo cellulare più prossimo alla membrana propria, cominciano ad apparire piccolissimi granuli di sostanza deutoplasmica. Tali granuli, pur aumentando in seguito, non raggiungono, per quanto risulta dai miei preparati la quantità che hanno trovato nella Cagna stessa, il van der Stricht (1908) e il Regaud e Policard (1901). Immediatamente dopo, alcuni nuclei si spostano verso l'ooplasma più presto, altri più lentamente; così viene a costituirsi la figura della granulosa bistratificata. In questo momento l'accumulo di sostanza deutoplasmica è verso l'esterno del follicolo, cioè nella base (poggiante sulla vitrea) delle cellule, le quali, come si disse, hanno il nucleo vicino all'ooplasma. In seguito, mentre per ragioni inerenti al movimento secretorio, i nuclei più alti cominciano a discendere, costituendo la figura delle cellule filiformi, con nucleo nel mezzo (vedi Fig. 9*b*), altri nuclei si trovano ancora presso l'oocite, altri vicino alla membrana propria folliculi. In questo stadio appunto si costituisce il cosidetto follicolo tristratificato[1]). Le cellule i cui nuclei subiscono tali spostamenti, presentano alla base, dei granuli piccolissimi di natura lipoide, e altri più numerosi e compatti, che si colorano in viola carico con il metodo Benda-Van der Stricht. Questi ultimi si trovano anche nello spessore della membrana propria, e, come vedremo, anche nella zona pellucida, ove costituiscono delle correnti di materiale che si rinviene più tardi nell'ooplasma. Ciò rende ovvio assegnare tali fenomeni che si esplicano nelle cellule della granulosa, a un movimento di

---

[1]) Del resto nessuno mai ha osservato dei follicoli nettamente bi-tristratificati, avendo solo visto che le cellule (bisognerebbe dire »i nuclei«) sono disposte più o meno regolarmente su due — tre linee. — È facile vedere che un follicolo bistratificato è in certi punti mono-in altri tri-stratificato e così via. Tale apparenza si spiega benissimo con l'interpretazione nostra, basata sui fatti osservati e descritti nelle pagine precedenti.

materiali nutritizi destinati all' ovoplasma. L'idea, del resto, che le cellule della granulosa contribuiscano alla costituzione del deutoplasma non è nuova, come ebbi a notare in un lavoro precedente (1912).

Costituzione della Zona pellucida.

Attorno alla membrana ovulare, fino dallo stadio in cui la granulosa mostra due — tre linee di nuclei, si accumula un certo numero di granuli tinti in bruno-nero dall'Ematossilina Ferrica. Di essi alcuni son posti dentro la porzione prossimale delle cellule, altri negli spazi intercellulari. Per lo più in questo momento, la regione prossimale (filiforme) delle cellule è tinta uniformemente, come se fosse riempita d'una sostanza omogenea, coagulata dai reagenti adoperati nella microtecnica, e fornita di forte affinità per i coloranti. Ciò conferisce alla membrana ovulare nella sua superficie più esterna, un aspetto frastagliato speciale, già visto da Russo (1907), Regaud et Policard (1901) e ben rappresentato anche nel manule del Kölliker (1902, Vol. III, pag. 532). Intorno all'oocite allora, si costituisce una membrana abbastanza spessa, percorsa da correnti di granuli di natura deutoplasmica, i quali però nè ora nè durante lo sviluppo ulteriore si mostrano colorate dall'acido osmico. Quanto alla struttura della zona pellucida che così viene a formarsi, io non posso che confermare pienamente nella Cagna quanto già ebbe a mettere in luce e a provare sperimentalmente (1897) il Prof. Russo[1]). Secondo quest'autore, la membrana radiata è costituita:

a) da una zona più vicina alla periferia dell'oocite, da cui è separata per mezzo dello spazio perivitellino e formata dall' accumulo di materiali nutritizi, passati attraverso la zona pellucida vera e propria che costituisce:

b) lo strato intermedio, il quale consta d'una membrana fondamentale attraversata dalle dette correnti nutritizie;

c) da uno strato granulare che è il più esterno e risulta costituito dai materiali elaborati direttamente dalle cellule della granulosa.

Anche Regaud e Dubreil (1908) descrivono tre zone nella granulosa, ma le interpretano in modo diverso del sopradetto. Io non mi tratterrò a discutere le loro osservazioni, dopo la critica che il Russo stesso (1908) ebbe a farvi. Del resto in un capitolo seguente dovrò ritornare sull'argomento.

---

[1]) Sui risultati sperimentali, comprovanti chiaramente la natura deutoplasmatica di tali correnti, vedi anche il recente volume del Russo: Sommario delle lezioni di Zoologia generale — Catania, Tip. La Siciliana 1912.

Granulosa dei follicoli maturi.

La granulosa nei follicoli di Cagna, in tutti gli stadi del loro sviluppo, si presenta più regolare di quella della Coniglia, nè in generale mostra i vacuoli che sono tanto evidenti in quest'ultima, specie nel follicolo vicino allo scoppio. Per tale riguardo essa è più somigliante a quella del Maiale, la quale però è formata di elementi molto più grandi e quindi più adatti allo studio. Mancano in essa i cosidetti corpi di Call e Exner; le sue cellule sono provviste di piccoli e radi granuli lipoidei, messi in evidenza dalle miscele osmio-cromiche. Quando però il follicolo è molto avanti nello sviluppo, e l'uovo è maturo, nelle cellule della granulosa cominciano a comparire dei gruppetti di corpuscoli grassi, più abbondanti sempre negli elementi della granulosa ovulare. Fors'anche in questo momento, il follicolo, per mancato scoppio s'avvia alla degenerazione.

A seconda dell'età del follicolo e del suo stato di nutrizione, nelle cellule esiste invece costantemente una quantità più o meno grande di granuli che l'Ematossilina Ferrica tinge in bruno oscuro. Tali granuli sono minutissimi, e non si risolvono che con i più forti ingrandimenti. Essi inoltre possono essere sparsi nel citoplasma, ma possono anche aggregarsi e formare in determinati punti come un ammasso rotondeggiante. La loro natura mitocondriale risulta indubbia, ove si tenga conto della colorazione che assumono dopo trattamento col metodo Van der Stricht. Del resto, su ciò la maggior parte degli Autori da Benda che li scoperse, a Russo che ne dimostrò sperimentalmente l'ufficio, sono d'accordo. O. van der Stricht per il primo, nella Donna (1905) e nei Chirotteri (1912), trovò, in rapporto con queste granulazioni un corpo speciale che da esse sarebbe circondato e che egli figura e interpreta quale un centrosoma Tale corpo fu ritrovato recentemente (1911) da R. van der Stricht nelle cellule del disco proligero nel follicolo maturo di Gatta.

Ora, le formazioni rotondeggianti granulari di cui ho detto sopra, situate vicino al nucleo delle cellule nella granulosa dei follicoli maturi di Cagna, rispondono perfettamente alla descrizione datane dagli Aa. citati. In esse però non mi è stato possibile trovare il centrosoma figurato dal van der Stricht e dagli altri, ed in ciò le mie osservazioni concordano con quelle di Regaud e Dubreil (1905) fatte sulla Coniglia. Secondo me più che trattarsi d'un vero e proprio organo cellulare (centrosoma) analago a quello trovato in molte cellule secretrici (per es., nelle cellule interstiziali dell'ovaia) si tratta d'un accumulo di sostanza elaborata dagli

elementi stessi della granulosa (Fig 11 Tav. XV). A confortare tale ipotesi convengono le osservazioni seguenti. In molte cellule ho trovato quest'accumulo di sostanza come fusa e coagulata dai reagenti adoperati. In altre essa perde la forma rotondeggiante, e si estende irregolarmente nel protoplasma della cellula (Fig. 12 Tav. XV). Inoltre, generalmente, questa formazione si rinviene in quei follicoli in cui i materiali nutritizi si mostrano molto abbondanti, nonchè nei follicoli maturi e pronti allo scoppio e spesso anche nei follicoli in principio di degenerazione, ove sembra che le cellule continuino per un certo lasso di tempo ad elaborare del materiale, che però non viene utilizzato dall' oocite, entrato in fase involutiva. Tali constatazioni mi sembrano sufficienti per affermare che si tratti d'un addensamento di materiale, avvenuto in determinati momenti fisiologici dell'attività cellulare, e non d'un organite quale sarebbe il centrosoma. E difatti si osservano molti follicoli, in tutti i periodi della istogenesi in cui tale formazione non esiste del tutto.

Volendo approfondire lo studio della granulosa dei follicoli maturi, parlerò separatamente delle cellule parietali e di quelle che compongono il disco proligero.

a) Granulosa parietale. Essa è generalmente rappresentata da un tessuto semplice, di cellule cilindriche più o meno alte; nelle più alte però il corpo citoplasmico si è ridotto a un sottile filamento con un'estremità ingrossata e nucleata. Che tale tessuto sia monostratificato, risulta dall'attenta osservazione di follicoli fissati nei liquidi più adatti (Flemming, Hermann) nonchè dalla dissociazione della granulosa stessa, operata dopo macerazione in alcool ad un terzo, o con altri metodi, già usati da me (1912) nello studio della granulosa del Maiale. Del resto, l'osservazione di questa parte della granulosa, avendomi confermato tutti i reperti fatti nella Troia, credo poter esimermi da una descrizione particolareggiata di essa.

b) Granulosa ovulare. Dalle mie ricerche risulta costituita sempre da uno strato unico di cellule cilindriche (Fig. 13) delle quali alcune molto alte, altre molto basse, altre ancora costituenti stati intermedii. Le prime hanno il nucleo prossimale, addossato quasi alla zona pellucida; il loro citoplasma è chiaro, ma quasi costantemente contiene, al disopra del nucleo, o lateralmente, tra questo e la parete cellulare, un cumuletto di sostanza granulare, più o meno compatta (Fig. 14 *a*, *b*). Le cellule un pò più alte di queste, presentano generalmente questo cumuletto di sostanza spostato verso la porzione prossimale, la quale vien fortemente tinta dall' Ematossilina Heidenhain, dopo fissazione con liq. Benda (Fig. 14 *c*).

Le cellule più alte ancora, mostrano il cumulo di sostanza man mano più ridotto, più omogeneo, più compatto, ma in compenso la zona di citoplasma posta tra il nucleo e la base della cellula stessa, base che è impiantata sulla pellucida, diventa sempre più colorata ed ha l'aspetto di un protoplasma imbevuto d'un prodotto avente consistenza fluida o addirittura liquida. Nei più alti elementi, il cumuletto di sostanza intracitoplasmica è scomparso, mentre tutto il corpo della cellula che in questo momento è filiforme e clavata, assume una fortissima colorazione azzurro-nera (Fig. 14 *d*). Giunto a questo stadio, la cellula incomincia a poco a poco a scolorarsi, senza che la sua forma subisca cambiamenti apprezzabili; è facile infatti fra questi elementi altissimi trovare tutti gli stadi di passaggio, tra quelli infarciti di sostanza cromofila, e quelli completamente privi (Fig. 14 *e*). In corrispondenza di tali forme, la zona pellucida (Fig. 16) diventa compatta, omogenea, fortemente colorata, in tutto o in parte. Ove, insomma, essa è meno ricca di sostanza cromofila si scorgono le linee di granuli scoperti già dal Russo (1906); ove invece è più omogenea si vede scomparire la struttura radiata, granulare, e al posto delle radiazioni appare un cumulo omogeneo, svelato specialmente dall' Ematossilina Ferrica. In uno stadio ulteriore, mentre si costituisce quella zona che Regaud e Dubreil (1905) chiamano epiovulare, e la cui natura fu chiaramente dimostrata da Russo, la zona pellucida presenta solo un anello interno, spostato talvolta verso l'ovoplasma, addirittura simile a quello che lo stesso A. mise in evidenza nella Coniglia e che in altro materiale venne poi studiato dal Comes (1907).

L'interpretazione delle figure descritte è ovvia: Le cellule della zona ovulare, dopo essersi imbevute di sostanza cromofila, la cedono all'ooplasma attraverso la zona pellucida. Difatti, quando l'anello che esiste dentro quest'ultima membrana si riduce, le cellule stesse sono a protoplasma chiaro, avendo già compito l'atto secretorio (Fig. 13). Intanto la cosidetta zona epiovulare del Dubreil e Regaud si dissolve nell'ooplasma, lasciando qualche granulo, o qualche cumuletto nella zona pellucida, presso al limite interno (Fig. 13).

Che la granulosa ovulare fosse sede d'un processo secretorio di materiali nutritizi destinati all'ovo, oltre alla dimostrazione sperimentale del Russo e del Comes, già citati, avevan fatto supporre i reperti del Giacomini (1895), del Crety (1893), di Regaud et Policard (1901) e di altri, che misero in evidenza, dentro al citoplasma dei suoi elementi, granuli, fili ergastoplasmici, lipoidi ecc. Ma nessuno aveva dimostrato con prove di fatto l'esistenza e il meccanismo della secrezione. Qual-

cuno anzi. dalla presenza di cellule più o meno alte aveva creduto poter considerare anche la granulosa ovulare come formata da un tessuto di più strati di cellule[1]).

Ponti protoplasmatici tra l'ovo e la granulosa.

Una quistione importantissima è quella che si connette ai cosidetti ponti protoplasmatici tra le cellule del disco proligero e l'ovoplasma. Tali formazioni, viste primamente da Pflüger, studiate da Paladino, da Retzius, da v. Ebner (1900), da Kolossow (1898) e da altri, furono recentemente descritte da R. van der Stricht (1911) nella Gatta.

Anche Rubaskin (1905) le trova nel follicolo maturo (sprungreife Follikel) della *Cavia*, ma dice che essi «laufen in die Zone hinein, verlieren bald ihr protoplasmatisches Aussehen, werden dünner und durchdringen als dünne homogene Fädchen die Zone» (pag. 520)[2]).

Dopo le esaurienti osservazioni del Russo (1906—1908) il quale dimostrò, basandosi anche su materiale ottenuto sperimentalmente, la natura di tali formazioni, io non avrei qui insistito su di esse, se, proprio mentre redigevo il presente lavoro non fosse apparsa una monografia del Retzius (1912) il quale, riprendendo la tesi già sostenuta in seno alla Anatomische Gesellschaft (1899), cerca di mostrare l'esistenza di »protoplasmatische Fortsätze« che dalle cellule della granulosa, attraverso alla zona pellucida andrebbero all'ooplasma[3]). Per dar maggiore sviluppo al

---

[1]) Regaud in qualche lavoro e recentemente Lacassagne (1912) descrivono l'epitelio ovulare come costituito da un ammasso di cellule a contorno mal definito, tanto da dar l'idea d'un sincizio. Ora, per limitarmi alla Cagna, dirò che in questo animale siffatto carattere non si riscontra mai. in nessun periodo dell'istogenesi follicolare. Nei buoni preparati insomma, l'epitelio del cumulo proligero é costituito da elementi più o meno alti, sempre cilindrici e a contorni precisi e netti.

[2]) Secondo me, tale descrizione, è la più prossima al vero, anzi, ove se ne tolga l'interpretazione che l'autore vul dare ai filamenti, addirittura esatta. Infatti egli riconosce che questi »Fädchen« non hanno «apparenza protoplasmatica»; riconosce ancora che nella Zona pellucida mancano dei veri e proprii canali: »Ebensowenig lassen sich irgendwelche Kanälchen in der Zone bemerken. Sowohl bei den normalen, wie auch bei den zugrunde gehenden Eiern sind nur diese Fasern zu sehen, die selbständig die homogene Substanz der Zone durchbohren, ohne in Kanälchen oder Lücken mit deutlichen Konturen zu liegen«.

[3]) Mi sia lecito, a proposito di questa Monografia, esprimere la sorpresa provata nel leggere, dopo un riassunto bibliografico non molto particolareggiato, bensí esteso, la seguente frase: »Aus den darauf folgenden Jahren (cioé dal 1905) sind mir keine neuen speziellen Arbeiten über dieses Thema bekannt«, mentre bastava scorrere le ultime annate dell'Anatomischer Anzeiger e dei Rendiconti dell'Accademia dei Lincei, periodici tutt'altro che secondarii, per trovare le osservazioni del Russo (1906—1908) che sono le più recenti e le più specifiche fra quelle fatte sull' argomento!

suo tema, il Retzius prende in esame la granulosa ovarica delle diverse classi dei Vertebrati (Mammiferi, Uccelli, Rettili, Pesci) passando in rassegna un ricchissimo materiale, ma servendosi di metodi tecnici, a mio parere, specificamente inadatti. Per limitarmi ai Mammiferi, le figure, molto belle del resto nello insieme, che l'A. dà della granulosa del Coniglio e del Topo, mostrano chiaramente una profonda alterazione, dovuta al fissatore adoperato. È noto infatti come i liquidi a base di sublimato e acido acetico, specie quando questo è in quantità rilevante (come nelle miscele di Carnoy e Zenker adoperate dal Retzius), alterino gli elementi protoplasmatici molto delicati, qual'è appunto il caso della granulosa. Nelle ricche tavole che accompagnano il lavoro del Prof. Retzius, le cellule in parola vengono rappresentate come se fossero costituite da un protoplasma grossolanamente reticolato, mentre con liquidi più adatti e a fresco — secondo osservazioni mie — esse sono formate da un citoplasma compatto, finamente granulare.

Nei preparati ottenuti da pezzi fissati in diversi liquidi, specialmente con quello di Benda, di Flemming, d'Hermann, troppo noti ormai ai citologi perchè se ne descriva qua la superiorità rispetto al sublimato, anche quando questo formi la base d'una miscela (Liq. Zenker, Mingazzini ecc.) si vede chiaramente la pellucida, in determinati periodi dell'istogenesi follicolare, attraversata da catene di granuli dette, con felice e precisa espressione dal Russo, «correnti» di sostanza deutoplasmica. Tale sostanza, dapprima visibile come s'è detto sopra, alla base delle cellule del disco ooforo, si dirige verso l'ooplasma, ove si ritrova in modo evidentissimo. Del resto, non bisogna dimenticare che, come è andato dimostrando il Russo stesso, la zona pellucida è una membrana permeabile. Che si tratti di correnti e non di filamenti risulta anche dalle seguenti osservazioni:

a) Il numero e la grossezza di esse è in rapporto con l'età e collo stato di nutrizione del follicolo — mentre se si trattasse di filamenti, essi avrebbero una certa fissità nelle dimensioni e nella forma.

b) Quando l'ovo ha raggiunto l'ultimo stadio della maturità, la pellucida per lo più ridiventa chiara e sfornita delle righe in parola, mentre le cellule del disco proligero assumono una tinta chiara e sono sfornite di sostanze nutritizie.

c) Quando le sostanze che passano dalle cellule della ovulare all'ooplasma raggiungono il massimo valore, la zona pellucida presenta l'aspetto di un anello compatto.

Ora, tutte queste strutture mal si potrebbero spiegare ammettendo l'ipotesi di filamenti protoplasmatici ed escludendo quindi la permeabilità di detta membrana.

d) Infine, un'osservazione di gran peso, secondo me, è la conformazione speciale della porzione basilare delle cellule della granulosa ovulare. Tale porzione, lungi dall'essere appuntita o ramificata, come vorrebbe il Retzius, è, ad un'attenta osservazione, piatta, e si modella tutt'attorno alla zona pellucida (Fig. 13 e 16). Questa caratteristica, che credo per il primo di prendere in seria considerazione, è in qualche modo evidente anche in qualcuna delle microfotografie che accompagnano il lavoro pubblicato nel 1911 dal Prof. O. van der Stricht: al disopra della zona pellucida, dal lato esterno si trova come un merletto, risultante dalla proiezione ottica di tutte le regioni basali, triangolari o coniche delle cellule del disco, una sull'altra o le altre sottostanti. Tale fenomeno ottico dà l'apparenza di una membrana, detta dal Retzius (1889) e dal Rubaskin (1895) »das perizonale Fasernetz« o anche »periovuläre Netzwerk« (Retzius 1889). La presenza di granuli dentro queste regioni basali, mascherando i loro limiti, ha fatto sì che tale strato ricevesse da alcuni autori la designazione di «strato granulare».

Prima di por termine alla descrizione della granulosa, sia ovulare che parietale, voglio fare una osservazione alle vedute di O. van der Stricht (1912) e di Sobotta e Burckhard (1910) i quali han notato, come avvicinandosi allo scoppio il follicolo riduca la parietale a uno strato di due, tre assise cellulari. Quantunque l'osservazione in linea di massima possa ricevere conferma dalle ricerche presenti, io dò al reperto un'interpretazione ben differente, tenendo fermo cioè che la pluristratificazione è apparente e non reale. Nel follicolo pronto allo scoppio difatti la granulosa è più bassa; dimodo che i nuclei delle cellule follicolari sono più vicini gli uni agli altri, e molti sovrapponendosi danno l'apparenza notata dagli Autori sullodati; mentre, quando le cellule follicolari sono più alte, le linee che possono determinare i nuclei sembrano più numerose.

Del resto, se le cellule diminuissero numericamente, non potrebbero far ciò se non subendo dei processi involutivi. È vero che in questo momento della vita follicolare avvengono delle degenerazioni, ma il loro numero è troppo esiguo per spiegare la riduzione voluta dagli Aa. citati.

Costituzione dell' antro e del liquido follicolare.

L'antro si forma generalmente quando la granulosa presenta per lo meno quattro linee di nuclei. In questo stadio, per lo più il follicolo è leggermente ovale e la granulosa ha l'apparenza d'un tessuto meno compatto; essa contiene dei vacuoli, rappresentati da spazi irregolari, più o meno allungati e situati fra le cellule contigue. Di norma, la costituzione dell'antro incomincia col formarsi di una stretta fessura lungo una

linea intermedia tra la membrana follicolare e la zona pellucida, la quale ultima ancora non ha raggiunto il suo pieno sviluppo. Tale fessura va man mano estendendosi circolarmente sicchè la granulosa resta divisa in due sezioni delle quali una a contatto con l'ovocite (granulosa ovulare), l'altra a contatto con la membrana di Slawiansky. Maneano, nella Cagna, i eosidetti retinacula, tanto evidenti nella Coniglia. Quando il follicolo ha forma decisamente ovale, l'antro risulta dalla fusione di due cavità che si producono ai due poli, per così dire, nei due fuochi dell'ellisse ehe rappresenta il follicolo. Nella maggior parte dei casi, costituitosi completamente l'antro, l'ovocite con la granulosa che lo circonda, resta libero in esso; qualche volta, e ciò forse in rapporto con il modo primitivo della costituzione della cavità follicolare, o anche con lo sviluppo che essa raggiunge, una sezione della granulosa ovulare poggia su un punto della parietale, tenendovi fisso in contatto, l'ovocite. Certo, sulla causa che agisce per formare l'antro e sull'intimo processo di formazione, noi sappiamo molto poco. Eppure è quasi spontaneo chiedersi, considerando la granulosa come costituita d'un solo strato cellulare, come avvenga che alcune cellule vadano a formare la zona ovulare, le altre la parietale. Son esse predeterminate, cioè hanno dei caratteri differenziali, quantunque ci sembrino, prima della differenziazione, addirittura uguali? La questione è troppo delicata e complessa per poter decidersi senza studi specifiei. Posso però affermare, riservandomi di tentare la soluzione in altro lavoro, che la differenziazione deve avere per fondamento la forma delle cellule, le quali presentano delle regioni di minor resistenza, nella loro estremità affilata, la quale, come si è visto avanti, è impiantata ora sulla membrana propria ora sulla zona pellucida. Del resto, dal lato morfologico, la granulosa ovulare, già prima che l'antro si formi, si può spesso distinguere da quella porzione destinata a costituire la parietale, perchè fin dallo stato a 2—3 linee di nuclei alcune cellule si allungano maggiormente, si colorano meno, si assottigliano, mentre i loro nuclei acquistano una spiccatissima tendenza ad allontanarsi molto più degli altri, dalla zona pellucida. Sono appunto queste cellule che costitueranno gli elementi della granulosa ovulare, come può vedersi osservando diversi stadi.

L'antro, fin da quando è rappresentato da una fessura è ripieno di un liquido detto «Liquor folliculi». Esso nella Cagna si colora difficilmente, anzi, a dire del Regaud et Policard (1901) esso si mostra absolument incolore. Quando però si è costituita una larga cavità follicolare, e l'ovocellula s'avvia alla maturazione, il Liquor diventa compatto, molto colorabile, finamente granuloso. Allora nel Liquor stesso, intorno alle cellule della granulosa appariscono quei vacuoli semilunari che

così bene descrisse il van der Stricht, interpretandoli come espressioni morfologiche del fenomeno fisiologico della secrezione delle cellule stesse. È notevole il fatto che queste formazioni vacuolari non esistono quando il follicolo è giovane, quantunque la secrezione delle cellule appartenenti alla granulosa sia, come risulta da altri caratteri di cui sopra è stato fatto cenno, anche in questo stadio, in piena attività; tuttavia la loro esistenza costante in periodi determinati dell' istogenesi follicolare, la facilità di metterle in evidenza con qualunque processo di fissazione, ci indica chiaramente trattarsi d'un fenomeno normale. Il non vederle prima deve dipendere dalle condizioni del Liquor, che, come vedemmo, è incoloro. Del resto, su questo, come su altri fenomeni fondamentali che si avverano nel follicolo e nell'oocite, vera luce potrà farsi quando si incominceranno a studiare i fenomeni fisico-chimici dell'ovo e del Liquor che lo circonda, in rapporto ai fenomeni morfologici presentati da questi. Tali ricerche dovrebbero avere per base la permeabilità della Zona pellucida, secondo quanto il Russo potè constatare sperimentalmente. Difatti dobbiamo ammettere che avvengano dei processi osmotici tra l'ovocite e il Liquido follicolare, giacchè costantemente si trova che ad una maggior densità dell' ooplasma corrisponde una maggior densità del Liquor stesso.

La Granulosa nei follicoli in degenerazione.

Quantunque l'argomento del presente capitolo meriterebbe più estesa trattazione, mi sembra opportuno accennare qui al comportamento dell'elemento epiteliale del follicolo quando questo entra in processo involutivo. A tal riguardo bisogna distinguere tre classi di follicoli:

a) Follicoli in cui la granulosa conserva caratteri che possiamo dire normali, mentre l'ovocellula è degenerata completamente.

b) Follicoli in cui la granulosa è in involuzione, mentre l'ovocellula presenta caratteri normali o è solo in principio di degenerazione.

c) Follicoli in cui l'ovocellula e la granulosa degenerano contemporaneamente.

Nel primo caso vanno compresi molti oociti a degenerazione grassa. Allora, mentre l'ooplasma viene infarcito d'una quantità straordinaria di gocciole lipoidee, la vescicola germinativa si rompe, lasciando uscire la cromatina, che si sparge nell' ooplasma. Anche la pellucida non tarda a spezzarsi in uno o più punti, e allora per lo più uno degli estremi formatisi con la rottura si ripiega in dentro e penetra nell'ooplasma, ove si ravvolge su sè stesso in modo che in sezione la zona pellucida presenta la forma d'una spirale. Contemporaneamente, delle cellule di connettivo

invadono l'ovo. Intanto la granulosa conserva i suoi caratteri e non mostra nessun segno di involuzione, contrariamente a quanto sostiene Honoré (1900) il quale, appoggiandosi anche alle opinioni di Flemming, Schottländer, Henneguy, Janosick, Rabl, afferma che nella degenerazione grassa, l'atresia che colpisce un follicolo interessa in primo luogo le cellule epiteliali della granulosa, le quali mostrerebbero le alterazioni caratteristiche della degenerazione cromatolitica, mentre l'ovulo non verrebbe colpito che ulteriormente. È vero che lo stesso A. descrive una eccezione a tale fenomeno; ma l'eccezione riguarda il caso particolare d'un follicolo pluriovulare. Le mie ricerche fan fede che il detto caso non è un'eccezione, anzi è piuttosto frequente, anche nei follicoli a un solo ovo.

Quando l'ovocellula dunque ha raggiunto uno stadio avanzato di degenerazione, la granulosa che costituisce la corona radiata assume caratteri speciali: le sue cellule diventano più lunghe, più colorate, più grosse. Talvolta si mostrano infarcite d'un prodotto che deve esser liquido perchè appare coagulato sotto l'azione del fissatore. Esiste quasi sempre il cosidetto «centrosoma» del van der Stricht, coi caratteri descritti sopra. In seguito le cellule diventano più basse, mentre le sfere grasse dell'ovoplasma si avvicinano fra loro in modo da costituire una massa, in cui però si arriva ancora a distinguere con forti ingrandimenti una sferula dall' altra. Infine tutta la sostanza lipoide si fonde in un liquido omogeneo che verrà in seguito assorbito. Contemporaneamente alla base delle cellule della granulosa ovulare appaiono dei grossi corpuscoli sferici di natura adiposa; più tardi le cellule si arrotondano, si staccano dalla zona pellucida e vengono riassorbite dal liquor folliculi che in questo momento raggiunge una compattezza e una colorabilità straordinaria.

Anche la parietale viene ad essere colpita dal processo involutivo. Contemporaneamente, come già videro il van der Stricht (1908) e il v. Winiwarter e Sainmont (1908) la membrana vitrea prolifera, dando delle gittate di connettivo che si spingono all'interno dell'antro e raggiungono e abbracciano, spesso, l'ovo. Talvolta il follicolo stesso da tali gittate connettivali vien diviso in tanti tubi più o men diritti e regolarmente cilindrici[1]). È notevolissimo il fatto che spesso la parietale anche in questo estremo stadio di involuzione follicolare è quasi intatta,

[1]) Tali tubi presentano caratteri tanto simili ai tubi midollari (vedi avanti) che è facilissimo, anche ad un occhio esercitato, scambiarli con quelli. Generalmente però essi, a differenza dei primi sono circondati da uno strato di cellule connettivali irregolari o vali (Thecazellen?) mentre quelli sono circondati da connettivo fibrillare comune.

e mostra caratteri normali. In essa è facile scorgere un tessuto monostratificato di cellule cilindriche sottili, con nucleo apicale o mediano, d'apparenza normale. Però dopo un certo tempo non precisabile, anch'essa degenera.

Come secondo caso ho considerato quello in cui la granulosa degenera mentre l'ovocellula resta intatta o tale apparisce. Ciò forse avviene per mancato scoppio del follicolo. La involuzione degli elementi della granulosa ha luogo per riduzione successiva del volume e specialmente dell'altezza di essi. Infine l'elemento si stacca e degenera in seno al liquor folliculi. Anche l'ovocellula finisce col degenerare. Notevole è in questi follicoli lo sviluppo enorme della Teca di Henle.

Nel terzo caso (degenerazione contemporanea dell'oocite e della granulosa) rientrano alcuni follicoli che subiscono l'involuzione pigmentaria e ialina descritta dal Paladino (1887), ma anche la degenerazione lipoide.

Epitelio dei tubi midollari.

Nell'ovario adulto di cagna si trovano speciali tubi a sezione cilindrica o ovale, secondo la direzione del taglio, isolati o anastomizzati fra di loro. Sul significato di tali formazioni le opinioni degli Autori sono quant' altre mai disparate; mentre alcuni difatti assegnano ad esse un ufficio nella costituzione dei follicoli, altri lo negano. H. von Winiwarter (1900) ha invero notato la partecipazione di essi, in un determinato periodo dello sviluppo ovarico, all'edificazione dei follicoli, ma considera questi ultimi come destinati tutti all'atrofia. La maggior parte degli istologi però li interpretano come organi rudimentali[1]) e quindi sforniti di funzione. Senza voler minimamente toccare la questione della loro origine e del loro ufficio nell'ovaia, credo opportuno far entrare nel presente lavoro la descrizione delle cellule che tappezzano la parete interna di essi, allo scopo di notare i rapporti con l'epitelio dei follicoli normali. Tali cellule sono allungate, filiformi, cilindriche e contengono un nucleo ovoide, perfettamente simile al nucleo delle cellule della granulosa e in posizione ora prossimale, ora mediana, ora distale (Fig. 15). Una sezione longitudinale di uno di questi tubi, presenta all'osservazione una caratteristica forma a palizzata, costituita da cellule allungate, come s'è detto, disposte regolarmente una dopo l'altra, e i cui nuclei son situati su due o più linee parallele, avvicinate alle due linee che delimitano la sezione del tubo in parola, come può vedersi nella Fig. 17. In una sezione tras-

[1]) Vedi Prenant et Bouin. Traité d'Histologie 1911. Vol. II. p. 1087.

versa invece si vede un cerchio delimitato da una parete continua, con le cellule disposte come tanti raggi (Popoff, 1911) convergenti dunque verso il centro del cerchio stesso, e contenenti una o più linee di nuclei come meglio d'ogni descrizione può dare un'idea la Fig. 18. Gli apici delle cellule si riuniscono fra di loro nel centro del cerchio, formando talora un reticolato (Fig. 18). In questo punto si scorge qualche volta uno stretto lume, ma anche quando manca, si può considerare come virtualmente presente, data la sottigliezza dell'estremo interno delle cellule. Non mancano tubi in cui il lume è bene sviluppato, nel quale caso contiene un liquido omogeneo, compatto, poco colorato del resto, ma molto somigliante al Liquor folliculi delle vescicole ovariche mature. Qual sia il destino e la funzione di tale liquido mi è per ora ignoto; è certo però che la sua presenza basta per far supporre la possibilità di una funzione, qualunque essa sia. Onde è inesatta l'affermazione del Winiwarter (1900) pel quale i tubi midollari «hanno una funzione nulla». Il liquido proviene dall'elaborazione delle cellule epiteliali, le quali contengono normalmente granuli di sostanza lipoide. Bisogna aggiungere che queste cellule sono spesso oltremodo lunghe, in rapporto al grande sviluppo che può raggiungere il diametro del tubo. Però noto che lo stretto legame che si stabilisce tra elementi diametralmente opposti dà, nelle sezioni longitudinali l'apparenza che le cellule attraversino tutte da un punto all'altro il tubo, mentre in vero solo alcune fanno questo.

Gli spostamenti che i nuclei subiscono entro tali cellule, presentandosi prossimali, distali o mediani; la forma delle cellule stesse; la presenza nel citoplasma, come anche mise in evidenza il Regaud e Policard (1901), di granuli che nei miei preparati son tinti dall'acido osmico o dall' Ematossilina ferrica, previa fissazione con liquido Benda, rendono legittimo il paragone di stretta simiglianza con gli elementi della granulosa, somiglianza del resto già intravista da Mac Leod (1881) nel Pipistrello, quantunque basata su dati differenti.

Riassunto e conclusioni.

Nonostante la concorde affermazione degli Aa. antichi e moderni, che la granulosa d'un follicolo ovarico nei Mammiferi risulti costituita d'un tessuto polistratificato, l'osservazione minuta e metodicamente condotta mostra invece come trattisi di un tessuto a un solo strato. Tale reperto, mentre è valso a mettere in maggiore evidenza la natura glandulare dell'epitelio follicolare, mostrandone il meccanismo e il prodotto di secrezione, indica come taluni fenomeni (formazione dell'antro follicolare, distinzione

di una granulosa ovulare e d'una gr. parietale ecc.) richieggano un'interpretazione diversa di quella che precedenti osservazioni han reso di comune dominio degli istologi.

L'istogenesi del follicolo insomma va modificata nei suoi particolari: essendochè la granulosa fin dalla sua origine è monostratificata, cade o vien diversamente intesa la consueta divisione dei follicoli in mono-bi-polistratificati — mentre la normale mancanza di divisioni cariocinetiche si rende di facile spiegazione.

L'esatta determinazione della forma delle cellule follicolari, ottenuta non solo studiando sezioni di ovaie trattate in modi diversi, e quindi di reciproco controllo, ma anche a fresco o per dissociazione in liquidi maceratori, escludendo assolutamente la presenza dei filamenti protoplasmatici congiungenti fra di loro le cellule stesse e queste con l'ovoplasma, mostra come le sostanze di nutrizione destinate all'ovoplasma passino senz'altro attraverso la zona pellucida proveniendo dalle cellule del disco proligero; la zona pellucida così va intesa come una membrana permeabile, giusta la determinazione datane per il primo da Russo.

La scarsa quantità di granuli osmiofili esistenti nelle cellule della granulosa[1]), l'enorme accumulo di grasso nell'ooplasma dell'ovo in via di maturazione; la mancanza di corpi di Call e Exner, nonchè il limitato sviluppo della circolazione sanguigna e linfatica, confrontato con i caratteri del follicolo ovarico del Maiale, da me precedentemente (1912) studiato, mostra come per un'osservazione che voglia esser sicura e minuta, le formazioni ovulari di due mammiferi diversi presentano differenze di non trascurabile valore e quindi come sia poco esatta l'abitudine di generalizzare fatti e strutture specifiche[2]).

È lecito affermare che se i processi esplicati da organi omologhi sono paragonabili, non sono identici, perchè i mezzi con cui tali processi si svolgono non sono uguali. A tal proposito vuolsi notare come da uno studio comparato della struttura minuta dei follicoli ovarici nei Mammiferi, ove fosse fatto con larghezza e precisione di metodo, potrebbe scaturire qualche nuova luce su fenomeni e su forme di dubbia interpretazione o addirittura oscuri.

Prima di por termine a questo breve riassunto generale dei più importanti fra i fenomeni descritti nel presente lavoro, parmi opportuno

[1]) Che il grasso normalmente manchi o sia poco rappresentato nella granulosa di certi animali, mentre abbonda in altri, fu già visto da J. Plato (1897), il quale assegnò il fenomeno a una differenza nel modo di nutrizione dell'ovocellula.

[2]) Del resto, anche il Trinci (1905) ebbe a notare che la granulosa di due animali appartenenti a generi e anche a specie diverse, presenti caratteri distinti.

notare come l'osservata funzione glandulare degli elementi della granulosa spieghi meglio certi fatti messi in luce da ricerche piuttosto recenti. Difatti, gli studi di Sobotta (1896—1899) e di Honoré (1899) condotti con vero rigor di metodo, nonchè le osservazioni di v. Winiwarter hanno mostrato come le cellule della parietale persistano anche dopo lo scoppio del follicolo, subendo ulteriormente una trasformazione che le cambia nelle cellule luteiniche del corpo luteo, la cui funzione è di secrezione interna. Insomma, la loro natura glandulare vien conservata, anche dopo aver esplicato il loro compito rispetto all'ovocellula. Lo stesso può dirsi delle cellule che costituiscono il disco proligero, le quali anzi pare acuiscano la funzione glandolare, come fan fede le ricerche istituite sulle ova tubariche da Sobotta (1910), Rubaskin (1905), O. van der Stricht (1908) ed altri.

Dai reperti ottenuti studiando l'ovaia di Cagna adulta, traggo le conclusioni seguenti:

1. La granulosa dei follicoli ovarici di Cagna, qualunque sia il periodo istogenetico che il follicolo attraversa, è costituita da un semplice strato di cellule, derivate per differenziamento da un sincizio periovulare, esistente primitivamente tra la periferia dell'oocite e il connettivo dello stroma ovarico.

2. Mancano o sono eccezionali, normalmente nei follicoli in cui non s'è ancora costituita una cavità follicolare, le divisioni cariocinetiche, che, ammettendo una polistratificazione progrediente collo sviluppo follicolare dovrebbero essere numerose. Di tal guisa, se gli elementi della granulosa aumentano numericamente, ciò è dovuto a una serie di divisioni amitotiche, attiva soprattutto durante lo stato di sincizio della granulosa, e avverantesi per uno speciale processo di sfaldamento che interessa i nuclei.

3. Fin dai primi momenti, la granulosa mostra una funzione secretoria ben evidente, le cui fasi sono in specie indicate da peculiari spostamenti dei nuclei nell'interno del corpo cellulare e dall'esistenza di prodotti granulari o fluidi.

4. Gli elementi della granulosa son tutti fondamentalmente simili di forma, differendo soltanto per l'altezza e per modificazioni del contorno, rispondenti ai momenti che attraversano durante l'atto secretorio. Gli elementi dell'ovulare e della parietale son simili ed esplicano entrambi funzione secretoria.

5. Nelle cellule della granulosa normale non esistono, o esistono solo in quantità sparuta, granuli lipoidi. Quando però il follicolo è molto avanzato nello sviluppo, si nota qualche cumuletto di granuli osmiofili,

specialmente nel disco proligero. Esistono invece corpuscoli minutissimi in quantità e disposizione diversa dentro il citoplasma, a seconda della fase secretoria che attraversa la cellula.

6. La Zona pellucida è una membrana permeabile attraversata da correnti fornite dai sopradetti granuli puntiformi esistenti nelle cellule dell'ovulare. Mancano le connessioni protoplasmatiche ammesse da diversi Autori. Tali correnti costituiscono un materiale deutoplasmico destinato a nutrire l'ovocellula.

7. Non esistono formazioni omologhe ai cosidetti retinacula, descritti in altri follicoli, e l'ovocite è per lo più libero nel centro della cavità, sicchè l'antrum viene a costituire una fessura più o meno larga fra l'ovocellula circondata dalla corona radiata e la parietale.

8. La degenerazione della granulosa, sia parietale che ovulare è spesso contemporanea alla degenerazione dell'oocite, ma in certi casi ne è indipendente.

9. I tubi midollari dell'ovaia sono forniti di un epitelio parietale costituito di cellule coniche sottili, spesso filiformi e allungatissime, molto simili a quelle che formano la granulosa follicolare. Esse sono dotate di funzione secretoria.

Catania, Giugno 1913.

Bibliografia.

1907. Comes, S. Alcuni particolari istologici d'onde proviene il materiale nutritivo dell'oocite dei Mammiferi. Arch. ital. d'anat. e d'Embr. Vol. VII.

1907. —— Ricerche sperimentali sulle modificazioni morfologiche della zona pellucida e degli inclusi dell'uovo dei Mammiferi. Arch. Zool. Vol. III. Fasc. II.

1893. Crety, C. Contributo alla conoscenza dell'ovario dei Chirotteri. Ric. del Lab. d'anat. R. Univ. Roma. Vol. III.

1908. Dubreil, G. et Regaud, G. Sur les productions exoplastiques des cellules folliculeuses de l'ovaire chez la lapine. Anat. Anz. Ergänzungsheft zu Bd. XXXII.

1900. v. Ebner, Über das Verhalten der Zona Pellucida zum Ei. Anat. Anz.

1895. Giacomini, E. Contributo all'istologia dell'ovario dei Selacei. Ric. Lab. An. Norm. Roma. Vol. V.

1899. Honoré, Ch. Sur la formation du corps jaune chez le lapin. An. Anz. Ergänz. z. Bd. XVI. S. 34.

1900. —— Recherches sur l'ovaire du Lapin. III: Notes sur des follicules de De Graaf à plusieurs ovules. Arch. de Biol. T. XVII.

1910. —— Recherches sur l'ovaire du Lapin. II. Rech. sur la formation des corps jaunes. Arch. de Biol. T. XVI. Fasc. IV.

1913. Jordan, H. E. Amitosis in the Epididimys of the Mouse. An. Anz. Bd. XLIII. Hft. 24.

1902. Kölliker, Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 6. Aufl. Bd. III. v. V. v. Ebner, Leipzig.
1898. Kolossow, A. Eine Untersuchungsmethode des Epithelgewebes, besonders der Drüsenepithelien, und die erhaltenen Resultate. Arch. f. Mikr. An. u. Entw. Bd. LII.
1913. Lacassagne, A. Etude histologique et physiologique des effets produits sur l'ovaire par les rayons X. Lyon.
1880. Mac Leod, J. Contribution à l'étude de la structure de l'ovaire des Mammifères. Arch. de Biol. T. I.
1912. Monterosso, B. Su la struttura e la funzione delle cellule parietali della granulosa nel follicolo ovarico del Maiale. Atti dell'Acc. Gioenia di Sc. Nat. in Catania. Ser. 5. Vol. V.
1887. Paladino, G. I ponti intercellulari tra l'ovo ovarico e le cellule follicolari. e la formazione della Zona pellucida. Anat. Anz. Bd. V.
1887. —— Ulteriori ricerche sulla distruzione e rinuovamento continuo del parenchima ovarico nei Mammiferi. Napoli.
1897. Plato, J. Zur Kenntnis der Anatomie und Physiologie der Geschlechtsorgane. Arch. f. mikr. Anat. Bd. L.
1911. Popoff, N. Le tissu interstitiel et les corps jaunes de l'ovaire. Arch. de Biol. T. XXVI. Fasc. III.
1905. Regaud, Cl. et Dubreil, G. La constitution de la zone pellucide. C. R. Ass. des Anat. T. III. Sess. Génève.
1901. Regaud, Cl. et Policard, A. Notes histologiques sur l'ovaire des Mammifères Ass. des Anat.
1901. —— Sécrétion par les cellules folliculeuses d'un produit particulier et accumulation de ce produit dans le protoplasma de l'ovule de Chien. Comptes-Rendus de la Soc. de Biol.
1889. Retzius. Die Intercellularbrücken des Eierstockeies und der Follikelzellen, sowie über die Entwicklung der Zona pellucida. Verhandl. An. Gesellschaft. III. Versamml.
1912. —— Zur Kenntnis der Hüllen und besonders des Follikelepithels an den Eiern der Wirbeltiere. Biolog. Unters. v. Retzius. Neue Folge. Bd. XVII. 1. Stockholm.
1905. Rubaskin, W. Über die Reifungs- und Befruchtungsprozesse des Meerschweincheneies. Anat. Hefte. Bd. XXIX. Hft. 3.
1906. Russo, A. Prime Ricerche dirette a determinare la permeabilità e la struttura. istochimica della zona pellucida nei Mammiferi. Boll. Acc. Gioenia.
1907. —— Modificazioni sperimentali dell'elemento epiteliale dell'Ovaia dei Mammiferi. R. Acc. Lincei. Vol. CCCIV.
1908. —— Per la costituzione della Zona pell. e la formazione del liquido follicolare nell'uovo dei Mamm. An. Anz. Bd. XXXIII.
1910. —— Sui prodotti del diverso tipo di metabolismo osservato nelle ova di Coniglia e sul loro valore per il problema della sessualità. Arch. di Fisiologia. Vol. VII. Fasc. VI.
1910. —— Sui mutamenti che subiscono i mitocondri e i materiali deutoplasmici dell'oocite di Coniglia in diversi periodi di inanizione. Arch. f. Zellforsch. Bd. V. Hft. 2.

1912. Russo, A. Aumento dei granuli protoplasmatici nell'oocite delle Coniglie iniettate con Lecitina, loro diminuzione nelle Coniglie digiunanti e loro natura lipoide e mitocondriale. Arch. f. Zellforsch. Bd. VIII. Hft. 2.

1902. Schneider, K. Lehrbuch der vergleichenden Histologie der Tiere. Jena.

1896. Sobotta, J. Über die Bildung des Corpus luteum bei der Maus. Arch. f. mikr. Anat.

1899. —— Über das Corpus luteum der Säugetiere. An. Anz. Ergänz. z. Bd. XVI.

1910. Sobotta, J. e Burckard, G. Reifung und Befruchtung des Eies der weißen Ratte. Anat. Hefte. I. Abt. 127. Hft.

1905. Trinci, G. Osservazioni sui follicoli ovarici dei Rettili e di altri Vertebrati, con speciale riguardo alla struttura e funzione della granulosa. Arch. d'Anat. e d'Embr. Vol. IV. Fasc. I.

1905. Van der Stricht, O. La structure de l'œuf des Mammifères. 2. partie. Structure de l'œuf ovarique de la Femme. Bull. Ass. Roy. des Méd. de Belgique.

1908. —— La structure de l'œuf de Chienne et la genèse du Corps jaune. C. R. de l'ass. des Anat. Marseille.

1912 —— Sur le processus de l'excrétion des glandes endocrines: Le corps jaune et la glande interstitielle de l'ovaire. Arch. de Biol.

1911. Van der Stricht, R. Vitellogenèse dans l'ovule de Chatte. Arch. de Biol. T. XXVI. Fasc. III.

1900. v. Winiwarter, H. Recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des Mammifères (Lapin et Homme). Arch. de Biol. T. XVII. Fasc. I.

1908. v. Winiwarter, H. et Sainmont, G. Nouvelles recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des Mammifères (chat). Arch. de Biol. T. XXIV. Fasc. I.

Spiegazione delle Tavole.

Tutte le figure sono disegnate alla camera lucida Nachet con proiezione sul tavolo di lavoro.

Tavola XV.

Fig. 1. Ovocite e follicolo primordiale: la granulosa è rappresentata da due nuclei posti in una massa indifferenziata di protoplasma. Liq. Benda — Ematossilina Ferrica. Oc. 4, obb. 8*, Koristka.

Fig. 2. Nuclei della granulosa d'un follicolo primordiale. Il protoplasma indifferenziato non si è disegnato. Prepar. come sopra. Oc. 4. obb. semiap. 1 : 15.

Fig. 3. Follicolo giovane per mostrare la granulosa costituita d'uno strato di nuclei cellulari a citoplasma indistinto (simplasto). Prep. come sopra. Oc. 4, obb. 8*.

Fig. 4. Follicolo giovane per mostrare lo spostamento contemporaneo dei nuclei della granulosa verso la membrana propria folliculi. Sublimato alcool. acet. Emat. Ferr. Oc. 4, obb. 8*.

Fig. 5. Sezione di follicolo in cui non s'è ancora formato l'antro. I nuclei degli elementi epiteliali sono disposti su due linee. La monostratificazione è evidente. Benda — Emat. Ferrica. Oc. 4, obb. 6.

Fig. 6. Cellule della granulosa d'un follicolo «bistratificato». a) con nucleo prossimale, b) con nucleo distale. — *mpf* = membrana propria folliculi; *Zp* = membrana ovulare. Benda — Emat. Ferrica. Oc. 4, obb. 1 : 15 semiap. imm.

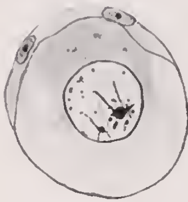


Fig. 1



Fig. 2a



Fig. 2b



Fig. 2c



Fig. 3

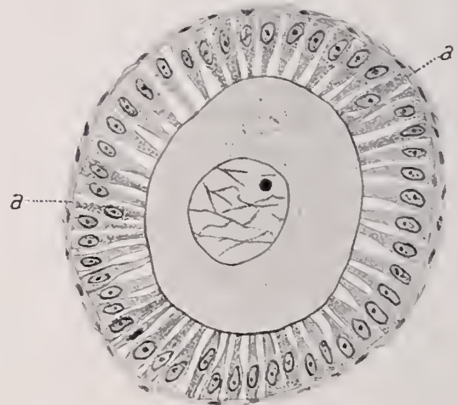


Fig. 4

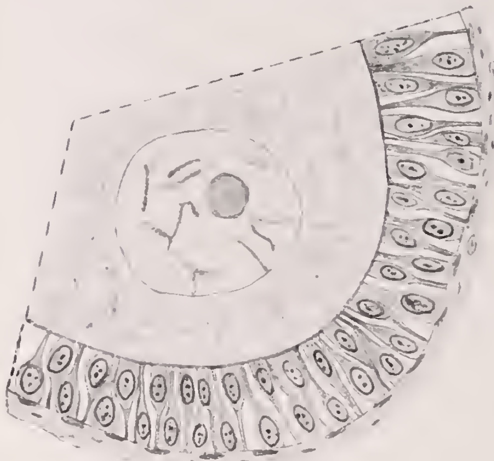


Fig. 5



Fig. 6a



Fig. 6b

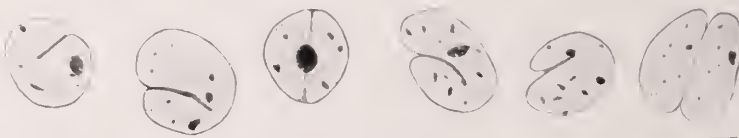


Fig. 7



Fig. 8a



Fig. 8b



Fig. 8c



Fig. 8d

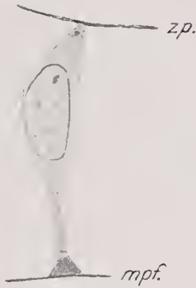


Fig. 9a



Fig. 9b



Fig. 9c

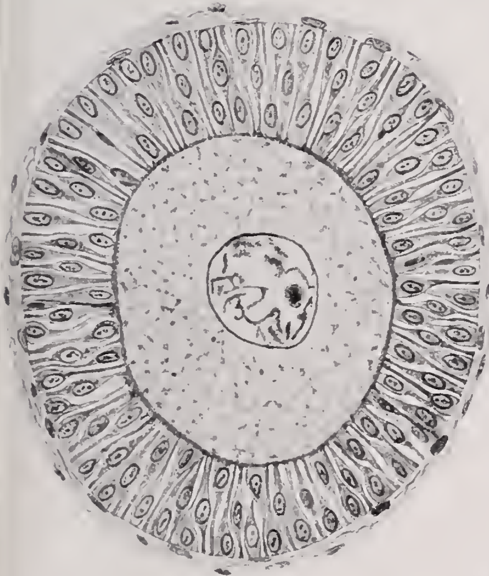


Fig. 10



Fig. 16

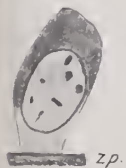


Fig. 14a



Fig. 14b



Fig. 14c



Fig. 14d



Fig. 14e

ann in Leipzig und Berlin.

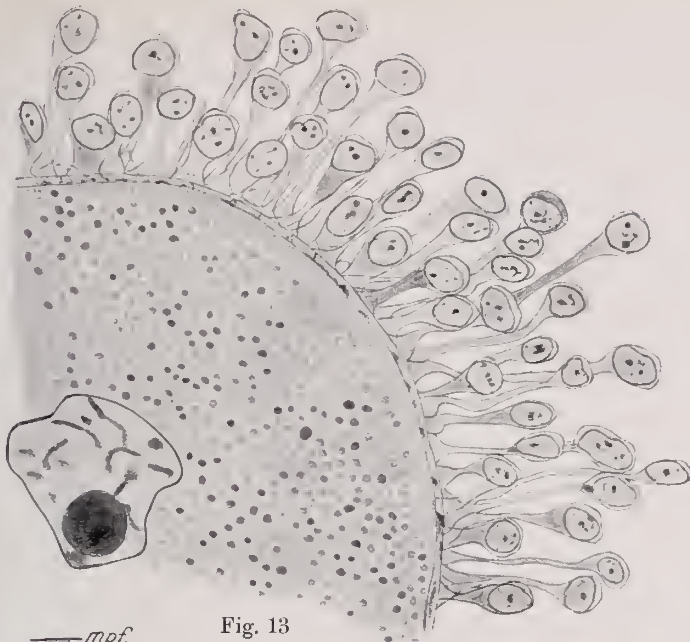

Fig. 13



Fig. 11

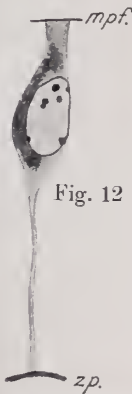


Fig. 12

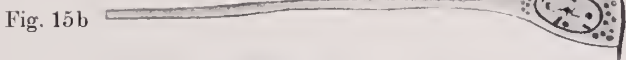
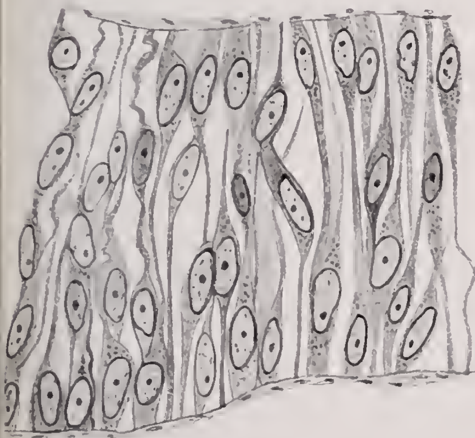
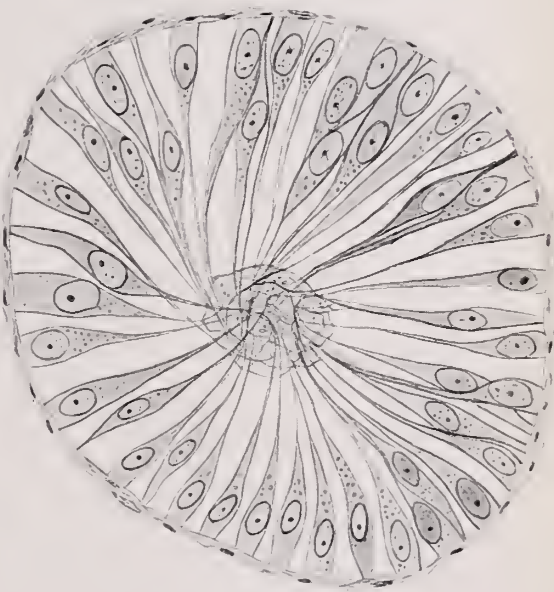

Fig. 15b


Fig. 15a


Fig. 17


Fig. 18

B. Monterosso del. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin.

Fig. 7. Nuclei della granulosa allo stato di sincizio d'un follicolo giovane, per mostrare le diverse fasi della scissione per clivaggio. Benda — Em. Ferr. Oc. 4, obb. imm. 1 : 16.

Fig. 8. Nuclei della granulosa d'un follicolo primordiale. Benda — Em. Ferr. Oc. 4, obb. 1 : 15 imm. omog.

Fig. 9. Cellule della granulosa d'un follicolo «tristratificato». Benda — Em. Ferr. Oc. 4, obb. 1 : 15. *Zp* = zona pellucida; *mp* = membrana propria folliculi.

Fig. 10. Follicolo ovarico normale in cui si vede come la stratificazione degli elementi della granulosa è apparente, e dovuta alla posizione dei loro nuclei. Benda — Em. Ferr. Oc. 4, obb. 8*. Proiezione con camera Nachet a livello del tavolino del Microscopio.

Fig. 11. Cellula della granulosa d'un follicolo con grande cavità follicolare. *c* = «centrosoma di Van der Stricht». Benda — Em. Ferr. Oc. 4, obb. 1 : 15.

Fig. 12. Cellula della granulosa d'un follicolo «bistratificato». Prep. e ingrand. come sopra.

Fig. 13. Sezione d'un ovo circondato dal disco proligero. Benda — Em. Ferr. Oc. 4, obb. 8.

Fig. 14. Cellule della granulosa ovulare d'un ovo appartenente ad un follicolo pronto allo scoppio, per mostrare le diverse fasi della secrezione. Benda — Em. Ferr. Oc. 4, obb. 1 : 15.

Fig. 15. Cellule dell'epitelio interno d'un tubo midollare dell'ovaia di cagna adulta. a) con nucleo distale, b) con nucleo prossimale. Benda — Em. Ferr. Oc. 4, obb. 1 : 15 semiap.

Tavola XVI.

Fig. 16. Sezione della granulosa ovulare d'un follicolo bene sviluppato per mostrare la zona pellucida (*Zp*) e il modo con cui le cellule si impiantano su di essa. Benda — Em. Ferr. Oc. 4, obb. semiap. 1 : 15.

Fig. 17. Sezione longitudinale d'un tubo midollare dell'ovaia di Cagna adulta. Prep. e ingrand. come sopra. Proiezione a livello del tavolino del Microscopio.

Fig. 18. Sezione trasversale d'un tubo midollare. Prepar. e ingr. come sopra.



Zum Chromatindualismus der Pflanzenzelle.

Von

M. v. Derschau
(Auerbach-Hessen).

Mit Tafel XVII.

Einleitung.

Geeignete Doppelfärbungen von chemischem Reaktionswert wie z. B. die bekannte Mischung von Säurefuchsin-Methylgrün (Ehrlich-Biondi-färbung) haben einwandfrei das Vorhandensein zweier »Chromatine« in pflanzlichen wie auch in tierischen Zellkernen erwiesen. Das Plastin (Oxychromatin) speichert den sauren Farbstoff, das Nuclein (Basichromatin) den basischen. Mit Ehrlich-Biondi gefärbte Präparate zeigen daher das Plastin leuchtend rot, während das Nuclein verschiedene Abstufungen von Grün, je nach seiner Dichtigkeit zuläßt. Häufig erscheint es auch als unreine Mischfarbe. Dies rührt von dem darunter liegenden Plastin her. Ist das Nuclein besonders mächtig, so entstehen auf diese Weise schmutzig violette Töne. Dieses Plastin ist der Sitz der Reizempfänglichkeit. Schon die Beobachtung, daß bei Anwendung von Fixiermitteln irgendwelcher Art diese Substanz und mit ihm das Cytoplasma unter Wasserabgabe dem andringenden Stoffe auszuweichen sucht, also schrumpft, zeigt die eben erwähnte Eigenschaft. — Untersuchungen, welche das Verhalten der Zellbestandteile äußeren Einwirkungen gegenüber zum Gegenstande hatten, besagen daher im Grunde nur, daß je nach der Art und dem Grade einwirkender Reize Ausdehnung, Zusammenziehung, lähmungsartige Zustände des Plastins die Folge sind [W. v. Wasielewsky[1]), B. Němec[2]), M. Koernicke[3]),

[1]) Theoretische und experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Amitosen. Jahrb. f. wiss. Bot. XXXVIII. 1903. Vgl. auch XXXIX. 1904.

[2]) Über die Einwirkung des Chloralhydrates auf die Kern- und Zellteilung. Jahrb. f. wiss. Bot. XXXIX. 1904. — Das Problem der Befruchtungsvorgänge usw. Berlin 1910.

[3]) Über die Wirkung von Röntgen- und Radiumstrahlen auf die Pflanzen. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1905.

Ch. F. Hottes[1]), R. Schrammen[2])]. Da nun das Plastin mittels der Kernbrücken sich auch auf das ganze Cytoplasmanetz erstreckt, ja sogar die Waben desselben mittels feinster Verzweigungen erfüllt, so ist natürlicherweise auch dieser Teil der Zelle denselben Reizbewegungen unterworfen. Diesem Kern und Plasma völlig durchtränkenden Oxychromatin lagert in Form größerer oder kleinerer Tröpfchen oder Körner das Nuclein auf. Es erscheint stets in eben beschriebenem morphologischem Sinne, Ausdehnung und Zusammenziehung scheinen ihm völlig abzugehen. In »ruhenden« Zellen, wie bei der Karyokinese ist seine Fortbewegung rein passiver Natur. Wir finden das Nuclein auf den Wabenwänden des Plasmas in Form größerer und kleinerer Körnchen oder Tröpfchen dem Plastin aufliegend als »Mikrosomen« verteilt. Diese periphere Anordnung im Kerne und der Zelle überhaupt macht es möglich, daß bei etwaigen Reizbewegungen des supponierten Plastins, dieser Stoff leicht nach den jedesmaligen Verbrauchsherden gelangen kann, wo es den Wachstumsfunktionen zu dienen hat[3]). Unter den geschilderten Verhältnissen kann man sich keine geeigneteren Transportbahnen denken. Beide Substanzen, die in der Zelle niemals isoliert anzutreffen sind, wie entsprechende Verdauungsversuche zeigten, leiten direkt zu jenen Bildungen über, welche von den Autoren als Kinoplasma (Strasburger), Ergastoplasma (Bouin) und Mitochondrien bzw. Chondriosomen (Meves, Heidenhain, Duesberg, Hoven, Lewitzky, Fohrenbacher, Rudolph) beschrieben wurden. Die Kinoplasmastrahlungen wurden von Strasburger bei der Karyokinese als Umwandlungsprodukte des Cytoplasmas (allerdings nur in morphologischem Sinne) angesehen und als reizempfindendes, nervöses Plasma betrachtet. Der Spindelapparat stellte dieses Kinoplasma vor. Auch bei der Cilienbildung der Schwärmsporen und den Spermatozoiden wurde es konstatiert[4]). Das Ergastoplasma Bouins nahm als individualisierte Plasmastruktur Anteil an der Ernährung junger Embryosäcke der Liliaceen. Was nun die Herkunft

---

[1]) Bei T. R. Schrammen, Über die Einwirkung von Temperaturen auf die Zellen des Vegetationspunktes von *Vicia faba*. Verhandl. d. naturhist. Vereins d. preuß. Rheinlande. 59. Jahrg. 1902.

[2]) Ebendaselbst.

[3]) Hier sei bemerkt, daß es mir manchmal schien, als ob das Nuclein in gewissen Fällen auch in diffuser dem Plastin ähnlicher Form auftreten könne, z. B. in den Tetradenstadien der Embryosackanlagen, in den Antipoden von *Nigella arvensis* usw. Jedoch lasse ich diese Frage dahingestellt.

[4]) Über Reduktionsteilung, Spindelbildung, Centrosomen und Cilienbildner im Pflanzenreiche. Histolog. Beiträge. 1900.

der Mitochondrien, Chondriosomen in Pflanzenzellen anlangt, so nimmt gegenwärtig wohl noch der größere Teil botanischer wie zoologischer Forscher deren Abstammung aus dem Cytoplasma an, gerade wie Bouins für ihr Ergastoplasma.

In jüngster Zeit führten nun besonders die Forschungen Stauffachers[1]) auf zoologischem Gebiete zu Resultaten, welche geeignet sind, diese Bildungen sowie ihre Herkunft in andrer Weise zu interpretieren. Im Gebiete pflanzlicher Cytologie gelangte ich zu denselben Resultaten[2]). Geeignete Fixierung sowie zweckmäßige Doppelfärbung (es wurde ausschließlich nach Ehrlich-Biondi gefärbt) ergaben, daß die oben erwähnten Phänomene sämtlich unter der Hauptmitwirkung des Kernes zustande kommen. Es ließ sich leicht erkennen, daß Plastin und Nuclein, vermittels der »Kernbrücken« den membranlosen Kern passierend, auf die Wabenwände des Plasmas hinübergleiten. Je nach der schwächeren oder stärkeren Durchtränkung der Plasmawabenwände mit diesen Kernsubstanzen, werden uns dann Gebilde wie die Mitochondrien, Plastochondrien, Ergasto-, Kino-, Deutoplasma, und wie sie alle heißen mögen, verständlich. Fig. *a* und *b* stellen ♂ und ♀ Archesporanlagen von *Tulipa* Gesn. und *Frittillaria imperialis* dar, in denen die als »Mitochondrien« bezeichneten Fäden zum großen Teil gerade den Kern verlassen. Sie sind sämtlich dem Plasma zu verjüngt und verzweigen sich auch mitunter. Dagegen finden sich auch perlschnurartige Fäden von annähernd gleicher Dicke, aber auch diese entstammen Kernen, da ihre Bestandteile dieselbe Tinktion wie die Kernsubstanzen aufweisen, also vor allem basichromatische Bestandteile darstellen. Nach meinem Dafürhalten sind die ergastoplasmatischen Fäden Bouins identisch mit den »Mitochondrien«. Auch sie stellen nichts andres dar, als Nuclein und Plastin, das den Kern verlassen hat und als Wanderungsbahn die Wände der Plasmawaben benutzt. Němec[3]) beobachtete in Riesenzellen von *Heterodera* dieselben als scharf abgegrenzte und stark lichtbrechende Fäden, welche ihm den Eindruck von langen dünnen Proteinkristallen machten (S. 156 l. c.). Seite 159 erwähnt er ihrer als fadenförmige Chro-

[1]) Beiträge zur Kenntnis der Kernstrukturen. Sonderabdr. a. Zeitschr. f. wiss. Zool. XCV. Hft. 1. 1910. — Neue Beobachtungen auf dem Gebiete der Zelle usw. Sonderabdr. a. Zeitschr. f. wiss. Zool. XCVIII. Hft. 3. 1911. — Die Rolle des Nucleins in der Fortpflanzung. Sep.-Abdr. a. Verh. d. Schweiz. naturf. Ges. 94. Jahresvers. Solothurn 1911. Bd. I.

[2]) Über Kernbrücken und Kernsubstanz in pflanzlichen Zellen. Sonderabdr. a. Archiv f. Zellf. Bd. VII. Hft. 3. 1911.

[3]) Das Problem der Befruchtungsvorgänge usw. Berlin 1910.

midien; auch in Riesenzellen von *Gardenia* beobachtete der Autor diese Gebilde. Bei *Pritchardia* konnte NĚMEC zwei Formen feststellen, eine dünne fadenförmige und eine dickere stark gekrümmte mit einem abgerundeten Körperchen am Ende. Diese dickere Form kann man auch in jungen Embryosackanlagen beobachten und zeigen mit EHRLICH-BIONDI dieselbe Färbung wie die dünneren Fäden. Allerdings erzielte dieser Forscher mit Paracarmin keine Färbung der »Mitochondrien«, während sich das Kernchromatin mit diesem Stoffe tingieren ließ. Der Autor kommt daher auch zum Schluß, daß es unrichtig sei, die »Mitochondrien« als Chromatin zu bezeichnen. Vielleicht hätte der Autor mit EHRLICH-BIONDI, einer Mischung von chemischem Reaktionswert, die Abstammung der Mitochondrien vom Kerne bestätigen können. Die Färbung mit Paracarmin möchte vielleicht mehr physikalischer Natur sein. Bei genügend feinen Schnitten kann man die »Mitochondrien« ihren Ursprung von dem basichromatischen Endkörperchen der Kernbrücken nehmen sehen. — Auch bin ich jetzt völlig überzeugt, daß die »Centrosomen« ausgewanderte oxychromatische Substanz mit auflagernden basichromatischen Partikeln darstellen. Bei stärkster Vergrößerung löst sich das »Centralkorn« in mehrere kleinere basichromatische Körner auf. Dies schließe ich aus den photographischen Aufnahmen der Figuren 20, 22, 23 meiner letzten Abhandlung[1]). Das Studium der »Chondriosomen« wurde botanischerseits in der jüngsten Zeit besonders von LEWITZKY[2]), FOHRENBACHER[3]), N. RONCATI[4]) und andern Autoren gepflegt. Diese Forscher halten an der Abstammung dieser Gebilde aus dem Cytoplasma fest. FOHRENBACHER sucht sogar die Chromatophorenbildner von den Chondriosomen herzuleiten. RONCATI hält sie für Plasmagebilde. Nach LEWITZKY sollen sich in der Stengelspitze des Pflanzenkeimlings Chondriosomen zu Chloroplasten umwandeln, in der Wurzelspitze zu Leukoplasten. Bevor ich zu den Beobachtungen LEWITZKYS übergehe, möchte ich noch erst der Kontrollbeobachtungen STAUFFACHERS Erwähnung tun. STAUFFACHER fixierte Wurzelspitzen von *Pisum sativum* in absolutem Alkohol und behandelte vor der Methylgrünfärbung die Schnitte mit Pepsin-

[1]) l. c.

[2]) Über die Chondriosomen in pflanzlichen Zellen. Sonderabdr. a. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Jahrg. XXVIII. 10. 1910. — Vergleichende Untersuchungen über die Chondriosomen in lebenden und fixierten Pflanzenzellen. Vorl. Mitt. Ber. Deutsch. bot. Ges. XXIX. 1912.

[3]) Die Chondriosomen als Chromatophorenbildner. Ebenda. XXIX. 1912.

[4]) Formazioni mitochondriali negli elementi sessuali maschili dell'Helleborus foetidus L. Estratto dal Bull. della Soc. bot. ital. 1910.

Salzsäure längere und kürzere Zeit, um das Plastin zu verdauen. Die darauf erfolgende Methylgrüntinktion zeigte deutlich die Nucleinträpfchen von derselben grünen leuchtenden Farbe wie diejenigen des Nucleolus, sie waren perlschnurartig vom Kern ausgehend angeordnet. Man kann den Versuch auch umgekehrt anstellen, und es gelang mir bei $^1/_2$—2% Kalilauge das Nuclein zu lösen. Es erhält sich dann das Oxychromatin (die Grundsubstanz des Nucleolus), welches kontinuierlich mit dem im Plasma vorhandenen Fühlung hält. Es stellte sich also heraus, daß 1. die »Chondriosomen« als Unterlage die Plasmawabenwände haben, welche mit Oxychromatin und basichromatischen Bestandteilen des Kernes belegt sind, und 2. daß beide Substanzen dem Nucleolus entstammen. Der organische Zusammenhang mit dem Kerne wird durch die Kernbrücken vermittelt. — Aber gerade letzterer scheint Lewitzky und den andern Autoren entgangen zu sein, was auch deutlich aus den Figuren der betreffenden Abhandlungen hervorgeht. Man sieht daselbst den Kern als annähernd runde Scheibe mit deutlicher Membran umgeben, ohne jeden Konnex mit dem umgebenden Plasma. Die »Chondriosomen« liegen sämtlich frei in demselben. Bezüglich des chemischen Verhaltens von Kernmembran und Cytoplasma bemerkt übrigens Němec (l. c. S. 328): .» . . Die Kernmembran bleibt ebenfalls lange erhalten, so daß sie sich in dieser Beziehung dem Cytoplasma nähert. Es stimmt dies auch mit der Auffassung vieler Cytologen überein, daß sie eigentlich eine Vacuolenmembran ist, die aus dem Cytoplasma entsteht.« (Von mir gesperrt.) Diese Auffassung Němecs macht die Annahme einer besonderen Kernmembran nur noch unwahrscheinlicher. Ein weiterer strittiger Punkt ist die Frage der Fixierung. Lewitzky rechnet den absoluten Alkohol zu den chondriosomenzerstörenden Mitteln. Dem

---

*) Bei dieser Gelegenheit möchte ich auf eine Abhandlung von Löwschin (»Myelinformen« und Chondriosomen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. XXXI. Hft. 4. 1913) hinweisen, in der die »Myelinformen«, welche sich bei Einwirkung emulgierender Stoffe auf Fettsäuren bilden, sehr in Gestalt und Form den »Chondriosomen« gleichen. Der Autor stellte mittels käuflichen Lecithins Myelinformen her und untersuchte sie in Wasser und den verschiedensten Salz- und Albuminlösungen. Der Verfasser neigt in der Folge seiner Ausführungen dahin, daß Myelinformen und Chondriosomen analoge Bildungen seien. — Von besonderem Interesse scheint mir die Beobachtung Russos (Arch. f. Zellf. Bd. VIII. Hft. 2) zu sein, der die Zunahme der »Mitochondrien« an Kaninchenoocyten sah, nachdem er die Versuchstiere mit Lecithin injiziert hatte. — Vom botanischen Standpunkt wäre vielleicht diese Erscheinung dahin zu erklären, daß die Kerne in dieser Weise besonders gut ernährt werden, so daß auch eine größere Menge Plastin und Nuclein abgegeben werden kann.

kann ich durchaus nicht zustimmen, denn die schönsten Färbungen von Plastin und Nuclein erzielte ich noch an *Fritillaria*-Wandbelegkernen, welche bereits 6 Jahre in absolutem Alkohol gelegen hatten. Desgleichen beobachtete STAUFFACHER bei direkter Verwendung des Methylgrüns an Präparaten, die mit absolutem Alkohol fixiert waren, nicht die mindeste Zerstörung des Chromatins[1]).

Ich glaube nun, daß die gemachten mikroskopischen Befunde hinreichen dürften, der Legende von Chondriosomen als selbständiger Plasmagebilde ein Ende zu machen und ebenso der Behauptung chromatinzerstörender Eigenschaften des absoluten Alkohols. Wirklich brauchbare Präparate erzielten STAUFFACHER und ich stets mit dieser Fixierung und nachfolgender EHRLICH-BIONDI-Färbung. Ausführlich wird sich STAUFFACHER in seiner kommenden Mitochondrienarbeit auch vom chemischen Standpunkt äußern. K. RUDOLPH[2]) unterwarf die Beobachtungen LEWITZKYS einer Nachuntersuchung. Der Autor fand als jüngste Ausgangsstadien im Urmeristem des Vegetationspunktes von *Asparagus officinalis* Körnchen verschiedener Größe. Einige derselben wuchsen heran, vermehrten sich rasch durch Teilung und wurden zu Chromatophoren. Aus den restierenden Körnern der Meristemzellen gingen kürzere oder längere Fäden hervor. Diese Gebilde hält der Autor für Mitochondrien. Jedenfalls nehmen auch nach K. RUDOLPH die in Frage stehenden Gebilde ihren Ursprung aus dem Cytoplasma. Daß diese »Chondriosomen« auch an lebendem Material zu beobachten sind, kann ich aus eigner Erfahrung bestätigen. Sie erscheinen als stark lichtbrechende, bald dickere, bald dünnere Fädchen. Nur auf die Interpretation derselben kommt es an. Daß Chondriosomen und Chromatophoren in genetischem Zusammenhange ständen, lehnt auch K. RUDOLPH ab[3]).

---

[1]) Es dürfte auffallen, weshalb LEWITZKY in seiner ersten Abhandlung nach dem 10%igen Formalin noch 5 Tage lang starken FLEMMING ohne Essigsäure auf sein Material einwirken ließ (S. 540). Nun soll gerade das 10%ige Formalin chondriosomenerhaltend wirken, warum dann noch die Behandlung mit starkem FLEMMING? Und das noch 5 Tage lang! — Nun ist ein derartig langes Verweilen der Objekte in einer Fixierflüssigkeit nur verderblich, indem durch postmortale Veränderungen in der Zelle leicht Fehlschlüsse hervorgerufen werden können. Es gesellen sich hierzu noch Widersprüche, indem in des Autors erster Abhandlung starker FLEMMING ohne Essigsäure chondriosomenerhaltend, in der folgenden (Ber. d. deutsch. bot. Ges. XXIX. Hft. 10. S. 691.) chondriosomenzerstörend wirken soll.

[2]) Chondriosomen und Chromatophoren. Berichte d. Deutsch. bot. Gesellsch. XXX.) Hft. 9.

[3]) l. c. S. 627.

I. Kernsubstanz und Chlorophyllkörner.

Auch die Abstammung der Chloroplasten ist wie die der »Mitochondrien« heute noch sehr umstritten. Im allgemeinen gilt heute noch die SCHIMPERsche Theorie als maßgebend. Die Chlorophyllkörner vermehren sich im Plasma durch Teilung und sind individuelle Organe desselben. Sie entstehen nicht de novo aus diesem. SCHIMPERS Theorie unterstützen in einleuchtender Weise CHMIELEWSKY[1]) und TRÖNDLE[2]) an *Spirogyra*-Arten. Sie fanden nach der Kopulation in der Zygote nur einen Chloroplasten, indem der andre zugrunde geht. Eine Entstehung de novo aus dem Kern konnte nicht gefunden werden.

NĚMEC[3]) untersuchte *Anthoceros dichotomus* und fand im Gametophyten einen Chromatophor, im Sporophyten (Kapsel) einen oder auch zwei. Die Spore hatte wieder einen und von diesem stammen durch fortlaufende Teilung alle Chloroplasten des Gametophyten. Also auch bei *Anthocerus* konnte der Autor nie einen Chloroplasten de novo entstehen sehen. HABERLANDT[4]) fand in den Zellen der Vegetationsspitzen von *Selaginella Krausiana* und *Martensii* kleine kugelige Leukoplasten. Jede Meristemzelle enthielt einen Chloroplasten und jede weitere Zellteilung begleitete eine einmalige des Chromatophors. Auch dort gab es keinen Anlaß, eine Neubildung von Chlorophyllkörnern aus dem Nucleus anzunehmen. NĚMEC hat gerade diese Verhältnisse bei *Selaginella Martensii* genau untersucht, wo er die Abstammung aller Chromatophoren von dem der Terminalzelle feststellen konnte. Der Autor fügt hinzu, daß der Chromatophor dort ganz klein sei und dem Kern dicht anliege. (Von mir gesperrt.) Ich möchte nun einwenden, daß gerade die letztere Beobachtung des Autors den Anhängern von der Kernabstammung der Chloroplasten gewissermaßen entgegenkommt. Es entsteht die Frage: entstammt der kleine, dem Nucleus dicht anliegende Chromatophor dem Kerne oder nicht? Nach neueren Beobachtungen an Chlorophyceen scheint mir ersteres ziemlich wahrscheinlich. Möglichst dünne Schnitte und scharf differenzierende Doppelfärbung dürften in diesem Falle vielleicht doch noch eine Entstehung de novo aus dem Kerne ergeben. Schon weiter

[1]) Eine Notiz über das Verhalten der Chlorophyllbänder in den Zygoten der *Spirogyra*-Arten. Bot. Ztg. 1890.

[2]) Über die Kopulation und Keimung von *Spirogyra*. Bot. Ztg. Bd. LXV. 1. Abt. 1907.

[3]) Das Problem der Befruchtungsvorgänge usw. Berlin, Gebr. Bornträger. 1910. S. 273.

[4]) Physiologische Pflanzenanatomie. 3. Auflage 1904.

ins Plasma vorgerückte und vom Kern isolierte Körner sind natürlich dem von SCHIMPER und seinen Anhängern beobachteten Teilungsmodus unterworfen.

Abgesehen von der Tatsache, daß der Kern eigne Substanz (Nuclein) zu vegetativen Vorgängen in das Plasma der Zelle abgibt[1]), hatte J. SCHILLER[2]) auf Anregung MOROFFS die Entstehung der Chromatophoren aus dem Zellkern nachzuweisen versucht. Ihnen folgte PENSA[3]). Dieser Autor beobachtete bei *Lilium candidum*, *Yucca filamentosa*, *Tulipa* protoplasmatische Bildungen, die an mitochondriale Formen erinnerten und er leitet aus diesen letzteren namentlich bei *Yucca filamentosa* alle Phasen der Chloroplastenentwicklung ab. Der Autor läßt somit die Chlorophyllkörner im letzten Grunde aus dem Cytoplasma hervorgehen. A. FOHRENBACHER[4]) betrachtet die »Chondriosomen« als Chromatophorenbildner und kommt zu denselben Schlüssen wie PENSA. Demgegenüber betone ich noch einmal den organischen Zusammenhang der Pyrenoide mit den Zellkernen bei den Chlorophyceen[5]). Man vergleiche hier auch die Arbeit von LIDFORSS[6]). Bereits oben bin ich auf die Figuren der Abhandlungen LEWITZKYS und FOHRENBACHERS zu sprechen gekommen und habe darauf hingewiesen, wie dieselben den tatsächlich vorliegenden Verhältnissen kaum genügen dürften. LEWITZKY[7]) betont ferner ausdrücklich, daß die über dem Kern liegenden Chondriosomen nicht diesem, sondern dem Cytoplasma entstammten. Den Konsequenzen nun, die FOHRENBACHER aus seinen Chondriosomen als Bildner der Chromatophoren zieht, vermochte ich leider nicht zu folgen.

Aus dem organischen Zusammenhange von Kern und Pyrenoiden schloß ich naturgemäß auf ähnliche Beziehungen zwischen Chlorophyllkorn und Kern bei den höheren Pflanzen. Die eigenartige kreisförmige Gruppierung jüngster Chloroplastenanlagen um den Kern auch in leben-

[1]) v. DERSCHAU, Die Entwicklung der Peristomzähne des Laubmoossporogoniums. Sep.-Abdr. a. Bot. Centralbl. Bd. LXXXII. 1900. — Beiträge zur pflanzlichen Mitose, Centren, Blepharoplasten. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLVI. 1908.

[2]) Über die Entstehung der Plastiden aus dem Zellkern. Österr. bot. Zeitschrift. 1909.

[3]) Alcune formazioni endocellulari dei vegetali. Boll. Soc. Med. chir. di Pavia 1910.

[4]) l. c.

[5]) v. DERSCHAU, Beziehungen zwischen Zellkern und Pyrenoiden bei den Chlorophyceen. Vorl. Mitt. a. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1909.

[6]) Über kinoplasmatische Verbindungsfäden zwischen Zellkern und Chromatophoren. Univ. Arsskr. Lund. N. F. IV. 2. 1908.

[7]) l. c. S. 540. Anm. 4.

den Zellen wurde auch von STAUFFACHER[1]) bemerkt und kam dieser Autor im Verlaufe seiner Beobachtungen zu denselben Resultaten wie ich; nämlich zu ihrer Herkunft vom Kerne. Um eine »Systrophe« im Sinne SCHIMPERS kann es sich nach den des näheren darzulegenden Verhältnissen nicht handeln. Wohl aber mag dieselbe für frei im Plasma liegende Chloroplasten Geltung haben, wenn durch Fixierung eine Kontraktion von Plastin und Plasma auf den Kern zu eintritt. Am zweckmäßigsten eigneten sich nun zum Studium dieser feinen Strukturen und Gebilde Epidermen junger Blätter und auch besonders die assimilierenden Gewebeschichten junger Fruchtknoten. Es kamen zur Beobachtung *Nigella arvensis*, *Lilium candidum*, *Martagon*, *Chrysanthemum leucanthemum*, *Prunus cerasus*, *Fritillaria imperialis*. Wie stets, wurde aus guten Gründen mit absolutem Alkohol fixiert und mit EHRLICH-BIONDI gefärbt. Die Schnitte betrugen meist 4 μ Dicke. Wo es anging, dienten als Kontrolle lebende Zellen von Epidermen. Bei *Chrysanthemum* gaben besonders die Zellen der verdickten Griffelbasis gute Bilder. Wie ich schon früher bemerkte[2]), dienen die Kernbrücken mit den basichromatischen Endkörnchen dem werdenden Chlorophyllkorn als Ausgangspunkt[3]), Fig. 1, 3—16. In Fig. 6, 7 ist die erste Verteilung von Basichromatin auf die Plasmawabenwände veranschaulicht. Fig. 11, 13 zeigen dessen feinere Ausbreitung, womit gleichzeitig eine Volumzunahme der Körner verbunden ist. Diese Ausdehnung auf das Wabennetz des Plasmas deckt sich mit der Beobachtung STAUFFACHERS[4]), der dies Phänomen mit den sechseckigen Verbleiungen der alten Butzenfenster vergleicht. Diese sechseckigen Grundlagen stellen kein besonderes Chlorophyllstroma vor, sondern sind kleine Territorien des Plasmanetzes. Die Beteiligung von Plastin kann man häufig bei älteren Chlorophyllkörnern feststellen. In Fig. 9 fällt eine rot sich tingierende Masse auf. In weiter vorgeschrittenen Körnern findet eine innigere Vermengung beider Kernsubstanzen statt, so daß bei der Färbung eine bräunliche Mißfarbe zustande kommt (Fig. 2, 8, 11). Die in den Chlorophyllkörnern vorhandene rot sich färbende Substanz (Plastin) dürfte vielleicht den Pyrenoiden als Homologon an die Seite gestellt werden. Dem Wachstum der Chloroplasten entsprechend, vermindert sich die Kernmasse, die schließlich völlig aufgebraucht

[1]) Über Chlorophyllkörner und Erythrocyten. Sep.-Abdr. a. Verh. Schweiz. naturforsch. Ges. 93. Jahresversammlung. Basel 1910. Bd. I.

[2]) l. c. S. 441.

[3]) Über Chlorophyllkörner und Erythrocyten. Sep.-Abdr. a. d. Verhandl. d. Schweiz. naturf. Gesell. 93. Jahresversammlung. Basel 1910. Bd. I.

[4]) l. c.

wird (Fig. 1). Auch kann man häufig an Stelle des fast verbrauchten Kernes dessen cytoplasmatische Begrenzung erkennen. Kerne, die in mitotischer Teilung begriffen sind, können auch zu gleicher Zeit Chloroplasten produzieren, wie aus den Fig. 10, 11 hervorgeht. Fig. 10 zeigt eine Anaphase, wobei besonders viel Basichromatin zur Bildung der Körner verwendet wird. Fig. 11 gibt zwei Tochterkerne wieder, die, von mehreren Chloroplasten umgeben, deutlich die verbindenden Brücken zeigen. Auch an Kernen in der Metaphase konnte ich gleichzeitig Chloroplastenentwicklung beobachten, jedoch nur in den assimilierenden Schichten der Fruchtknoten. Leider ist mir das betreffende Präparat abhanden gekommen, so daß ich auf zeichnerische Wiedergabe verzichten mußte. Die Kernbrücken erscheinen bald grün, bald rot tingiert, je nach der gerade passierenden Kernsubstanz. Fig. 14, 15, 16 sollen die Verhältnisse intra vitam wiedergeben. Die Chloroplasten ergrünen bereits, während sie noch mit dem Kerne in Verbindung stehen. Mit der Abnahme der Kernsubstanz nimmt auch natürlicherweise die Tinktionskraft ab (Fig. 1, 5). Die in Fig. 6 und 7 abgebildeten Chlorophyllanlagen (Ehrlich-Biondi) entstammen den Zellen der verdickten Griffelbasis von *Chrysanthemum leucanthemum* und haben übrigens große Ähnlichkeit mit den von Miss Browne[1]) beschriebenen und abgebildeten »Mitochondrien«. Da wir nun wissen, daß in unserm Falle wir es mit Oxy- und Basichromatin zu tun haben, so liegt die Möglichkeit sehr nahe, daß die Browneschen »Mitochondrien« aus denselben Kernsubstanzen bestehen dürften, welche sich nur auf die Wabenwände des Plasmas begeben haben. In dem Browneschen Falle dürften sich ganz besonders Färbungen mit Ehrlich-Biondi empfehlen. Austretende Kernsubstanz kann aber verschiedensten Zwecken dienen und damit auch sehr in der Form variieren. In dem von Miss Browne studierten Falle gelegentlich der Reifungsteilung des Eies von *Anodonta* findet eben eine direkte Verwendung der Kernstoffe zu Ernährungszwecken statt. Die von der Autorin erwähnte Chromatinverminderung bei Trennung der Chromosomenenden (*Ascaris megalocephala* und *A. lumbricoides*) scheint ebenfalls Ernährungsvorgängen zu dienen, wie dies auch für den »Chromatinring« bei *Dytiscus* der Fall zu sein scheint.

Zur Zeit des Ergrünens der jungen Chlorophyllanlagen zeigen gefärbte Präparate gleicher Phasen ein bedeutendes Überwiegen des Nucleins im Verhältnis zum Plastin. Es scheint dies auf besonders nahe

[1]) E. N. Browne, Study of the Male germ cells in Anodonta. Journ. of Experimental Zoology. Vol. XIV. Nr. 1. 1913.

Beziehungen des ersteren zur Chlorophyllbildung hinzuweisen, wie ja das Nuclein stets da in größerer Menge anzutreffen ist, wo Wachstumsvorgänge erledigt werden sollen. — Die vorgeführten biologischen Tatsachen dürften daher geeignet erscheinen, den Ursprung der Chlorophyllkörner vom Kerne abzuleiten, denn eine Entstehung de novo aus dem Plasma konnte in keinem Falle beobachtet werden. Eine Abstammung von »Mitochondrien« halte ich für vollkommen ausgeschlossen. Nach meinen Studien dienen die als »Mitochondrien« bezeichneten Plastin- und Nucleinbestandteile des Kernes im Werdegang der Zelle lediglich der Plasmaernährung. So erklärt es sich daher auch, daß wir dieselben in embryonalen Zellen, Tapetenzellen, Reifungsphasen von Geschlechtszellen reichlich vorfinden, wo sie bald im Plasma verschwinden. Auch intra vitam konnte ich nie Chloroplastenentwicklung an den stark lichtbrechenden »Mitochondrien« beobachten, die dann doch jedenfalls längst durch ihr Ergrünen hätten festgestellt werden können. Am Schlusse dieses Abschnittes erhielt ich durch die Güte des Herrn Professor Wl. Arnoldi[1]) ein Separat seiner Forschungen an Meeres-Siphoneen zugesandt. Der Autor bestätigt daselbst meine Beobachtungen hinsichtlich der Herkunft der Chloroplasten und Pyrenoide und ist auch geneigt, bei der Ovogonese der Gymnospermen einen organischen Zusammenhang von »Mitochondrien« und Kernen anzunehmen.

II. Vorgänge bei der lokalen Wandverdickung von Zellmembranen.

Bei Besprechung der Frage, ob der Zellkern als Träger des Idioplasmas aufzufassen sei, hat Haberlandt[2]) sich dahin geäußert, daß dann jene Bewegungszustände, durch welche das Idioplasma bzw. der Zellkern den ganzen Plasmakörper beherrscht, auf größere Entfernungen hin fortgepflanzt werden. S. 14 ebendaselbst sagt der Autor: »... Wir sehen hier ganz ab von der Frage, ob zur Fortleitung jener Bewegungszustände das Cytoplasma in allen seinen Teilen gleichmäßig befähigt ist oder ob sich in ihm hierzu besonders bestimmte Leitungsbahnen differenziert haben.« (Von mir gesperrt.) Haberlandt läßt die Möglichkeit zu, daß die Einwirkung des Kernes auf das Plasma sowohl eine dynamische wie eine stoffliche sein kann. (Von mir gesperrt.) Wir werden später sehen, daß beide Formen zur Geltung

[1]) Wl. Arnoldi. Materialien zur Morphologie der Meeressiphoneen. II. Bau des Thallorus von *Dictyosphaeria*. Flora Bd. V. Heft 2. 1913.

[2]) Beziehungen zwischen Funktion und Lage des Zellkerns bei den Pflanzen. Jena 1887.

kommen. Townsend[1]) kommt es zur Klärung dieser Fragen besonders auf die Forderung des Zusammenwirkens von Kern und Cytoplasma an, da er beobachtete, daß eine Störung desselben die Hautbildung verhindere. Die näheren Ursachen wären ihm jedoch nicht erkennbar. Jedenfalls könne man dem Kern allein nicht die Zellhautbildung zuschreiben. Es ist uns jetzt verständlich, weshalb dem Kern bei dieser letzteren Funktion der Hauptanteil zufällt. Townsend läßt es dahingestellt, ob die Bildung der Zellhaut durch Energieform oder materiellen Austausch vor sich gehe. Diese Fragen konnten meines Erachtens nicht eher gelöst werden, solange man an einer Kernmembran festhielt. Die Wechselbeziehungen zwischen Kern und Plasma, ob dynamischer oder materieller Art, bzw. beider, mußten erklärt werden auf mehr oder minder komplizierte Weise, wodurch der wahre Sachverhalt nur noch mehr verdunkelt wurde.

Ich erinnere nur an die hypothetische Annahme einer Diffusion gelöster Stoffe durch die Kernmembran. Welche Hindernisse für einen regen Stoffwechsel zwischen Kern und Plasma? Auf materielle Abgabe von Kernsubstanz deutet nach Strasburger[2]) die Entstehung des linsenförmigen Trägers der Cilien in den Zoosporen von *Oedogonium*. Allerdings verliere nach dem Autor der Kern den Nucleolus hierbei nicht, sondern es zieht sich dieser scheinbar intakt nach vollzogener Hautschichtverdickung wieder in das Innere zurück. Ich bin nun der Ansicht, daß der Zellkern recht wohl nucleolare Substanz während dieses Vorganges abgeben kann, ohne darum in jedem speziellen Falle seinen Nucleolus einzubüßen. Sowohl Haberlandt wie auch Townsend und Strasburger lassen also die Möglichkeit einer direkten Substanzabgabe zu. Es gelang mir später, diese Tatsache festzustellen[3]). E. Küster[4]) weist darauf hin, daß der Beweis noch zu erbringen wäre für die Annahme, daß in der Lage des Zellkerns der Ausdruck für die Rolle, die er beim lokalen Dickenwachstum der Zellwand spielt, zu suchen sei. Harper[5])

[1]) Der Einfluß des Zellkerns auf die Bildung der Zellhaut. Jahrb. f. wiss. Bot. XXX. 1897. S. 506.

[2]) Über Reduktionsteilung, Spindelbildung, Centrosomen und Cilienbildner im Pflanzenreich. Histol. Beiträge. Heft 6. Jena 1900. S. 188.

[3]) Die Entwicklung der Peristomzähne des Laubmoossporogoniums. Ein Beitrag zur Membranbildung. Bot. Centralbl. LXXXII. 1900. Desgl. »Wanderung nucleolarer Substanz während der Karyokinese und in lokal sich verdickenden Zellen«. Sonderabdruck aus Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XXII. Heft 8. 1904.

[4]) Über die Beziehungen der Lage des Zellkernes zu Zellenwachstum und Membranbildung. Flora. Bd. XCVII. S. 23. 1907.

[5]) Kernteilung und freie Zellbildung im Ascus. Jahrb. f. wiss. Bot. XXX. S. 276. 1897.

betont gelegentlich der freien Zellbildung im Ascus, daß der Kern bei der Bildung der kinoplasmatischen Grenzschicht eine wichtige Rolle spiele und schließt dies aus der eigenartigen Einrichtung des Schnabelfortsatzes desselben. Der Kern und die Centrosphäre blieben während des ganzen Prozesses innig miteinander verbunden. (Von mir gesperrt.) Auch konnte HARPER sich nicht von der Selbständigkeit der Centrosphäre bei den Ascus-Kernen überzeugen. Ferner nimmt der Autor an, daß die Centrosphäre nichts andres als den Vermittelungspunkt zwischen Kern und Plasma bedeute, von welchem das im Kern gebildete Kinoplasma sich verbreite und dann die formativen Gestaltungsprozesse in der Zelle durchführe. Diese Auffassung HARPERS kommt der unsrigen sehr nahe, nur mit dem Unterschiede, daß eine »Chromatinausschüttung« aus dem Kerne, wie wir heute sagen würden, noch nicht direkt ausgesprochen wird. MAGNUS[1]) findet, daß bei der Cellulosebildung ein Substanzverlust der Kerne eintritt, der schließlich zu völliger Atrophie derselben führen könne. Für die Beziehungen des Kernes zur Cellulosebildung spricht ferner der Befund TISCHLERS[2]), daß der Kern im Verlaufe desselben gänzlich aufgebraucht werde. NĚMEC[3]) äußert sich folgendermaßen: ». . . Häufig bemerkte ich, daß an den Kern eben da, wo über seine Oberfläche ein Körnchen hinausragt, ein feiner plasmatischer Faden ansetzt, der sich meist bis zur Zellwand oder in das wandständige Cytoplasma verfolgen läßt. Er färbt sich zwar nicht, enthält auch keine Chromatinkörnchen, dennoch ist es aber nicht ausgeschlossen, daß hier ein fadenförmiger Kernfortsatz vorliegt.« — Hier möchte ich bemerken, daß, wenn der feine cytoplasmatische Faden sich auch einmal nicht färben sollte, er dennoch dem Transporte von Plastin und Nuclein dienen kann. Bei den feinen Verbindungsfäden, die Kern und sich verdickende Wand bei der Peristombildung verbanden, war jedenfalls recht häufig Chromatin auf denselben zu beobachten[4]). Seite 392, l. c., nimmt NEMEC an, daß nach HABERLANDT, MIEHE, W. MAGNUS, v. DERSCHAU geschlossen werden könnte, daß die Wirkung des Kernes auf das Cytoplasma beschränkt wäre. Diese Ansicht liegt mir fern. Da wir wissen, daß das Oxychromatin und Basichromatin bis an die äußersten Teile des Protoplasten zu verfolgen ist und wir also auch die Mikrosomen (Nuclein) überall verteilt sehen, erstreckt sich der Ein-

[1]) Studien an der endotrophen Mycorrhiza von *Neottia nidus avis*. PRINGSHEIMS Jahrb. f. wiss. Bot. XXXV. 1900. S. 52.

[2]) Die Bildung der Cellulose. Biol. Centralbl. XXI. 1901. S. 254.

[3]) l. c. S. 284—285.

[4]) l. c.

fluß des Kernes auf den ganzen Protoplasten der Zelle. Aus diesem Grunde trete ich auch für die SACHSsche Auffassung nicht ein. Das Plastin eines Zellkernes kommuniziert überdies mittels der Plasmodesmen mit dem der benachbarten Zelle, infolgedessen ich mir recht gut Fernwirkungen auch stofflicher Art seitens einer kernhaltigen Zelle auf eine andre benachbarte kernlose vorstellen kann. (Vgl. TOWNSEND, l. c.)

Die Beobachtungen PALLAS[1]), daß kernlose Plasmateile (Rhizoidstücke, Plasmateile in den Brennhaaren von *Urtica*) fähig waren, eine Membran zu bilden, stehen höchstwahrscheinlich nur scheinbar mit den Beobachtungen von TOWNSEND in Widerspruch. Ich kann mir aus dem oben Gesagten dieses Phänomen nur erklären, wenn ich annehme, daß im isolierten kernlosen Plasmateil das vorhandene Plastin noch fähig war, Nuclein zur Membranbildung zu verwenden. Ebenso ließe sich das Verhalten des lebend gebliebenen Plasmarestes im Pollenschlauch von *Galanthus nivalis* erklären, wenn er nach Verlust des vegetativen und generativen Kernes noch fähig war, sich gegen den verletzten Scheitel hin, durch eine Cellulosekappe abzuschließen[2]). Diese meine Auffassung wird durch den Schlußsatz PALLAS bekräftigt, daß kernlose Plasmapartien eine Zellhaut zu bilden imstande seien, wenn sie zur Zeit ihrer Isolierung einen zur Membranbildung verwendbaren Stoff als Reservesubstanz enthalten. — Ich habe nun angesichts dieser Fragen nochmals die Entwicklungsvorgänge bei Wandverdickungen an den Laubmoosperistomzähnen verfolgt und bin zu der Überzeugung gelangt, daß nachweisbar beide Kernsubstanzen an dem Aufbau der Peristomwände sich beteiligen, ob auch Plasma, ließ sich direkt nicht nachweisen, ist aber möglich.

Auch an den jungen Deckelzellen der Laubmooskapseln lassen sich recht gut die in Frage stehenden Vorgänge beobachten. Das Oxychromatin durchströmt vom Nucleolus ausgehend, schon in frühen Phasen, den Protoplasten in der bekannten Mitochondrienform. Wo die Verstärkung der Membran vor sich gehen soll, ist auch die Hauptmasse des Plasmas anzutreffen. Das Plasma dürfte hier wohl mehr als Vermittler der Leitungsbahnen für die Kernsubstanzen in Betracht kommen als im Sinne einer direkten Verwendung zur Membranverstärkung. Man findet nämlich schon in recht frühen Phasen die Plasmaverteilung ziemlich gleichmäßig vollzogen. In bestimmten Abständen lassen sich nun im Plasma mitochondrienartige Bahnen nach den zu verdickenden Lamellen hin verfolgen.

[1]) Über Zellhautbildung kernloser Plasmateile. Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch. XXIV. 1906.

[2]) l. c. S. 409.

Sie bestehen aus Plastin und Nucleintröpfchen und nehmen ihren Ausgangspunkt von den basichromatischen Endkörnchen der Kernbrücken (Fig. 17). Das Basichromatin wird in Körnchen- oder Tröpfchenform an der Membran abgesetzt. Junge, sich verdickende Membranen der Deckelzellen z. B. zeigen nach geraumer Zeit die grüne Tinktion wie das angelagerte Nuclein. Das Oxychromatin scheint bei diesem Vorgange sich nur als Transportmittel zu beteiligen, da diese Substanz aber stets als Unterlage des Nucleins gefunden wird, so liegt ja die Annahme nahe, daß es ebenfalls als Baumaterial Verwendung finden dürfte. In seiner Eigenschaft als reizbare kontraktile Substanz dürfte es jedoch wohl nur dem Zwecke des Transportes von Basichromatin dienen. Einen Abbau eigentlicher plasmatischer Substanz zu Verdickungszwecken konnte ich direkt nicht wahrnehmen. Allerdings schwindet das Plasma mit zunehmender Wandverdickung, aber es können hier auch direkte Schrumpfungen des Protoplasten durch Wasserverlust im Spiele sein. Ich vermute, daß eher die basichromatische Substanz eine Umwandlung in Cellulose erfahren dürfte. Damit ist ja direkter Plasmaverbrauch nicht ausgeschlossen. Für einen geringen eventuellen Plasmaverbrauch sprechen die Beobachtungen von LANGE[1]), wo nach Entwicklung und Verholzung der Tracheiden und Gefäße immer noch Plasmareste in denselben vorhanden waren, während der Kern inhaltsarm wurde und völlig degenerierte. Seite 36 bemerkt der Autor, daß bis zur Vollendung der Verholzung eine erhebliche Abnahme des protoplasmatischen Inhaltes der Tracheen nicht beobachtet werden konnte. und fügt hinzu, daß bis dahin noch Baustoffe von außen zugeführt werden. Die Baustoffe der Tracheen dürften nach meinen Beobachtungen wohl dem Kern entnommen werden in der schon des öfteren dargelegten Weise. Diese Vorgänge legen den Gedanken nahe, daß starke Verholzung und Neubildung von Gefäßen, Libriform usw., bei sensiblen Pflanzen infolge von Kontakt weniger der Reizbarkeit des Protoplasten als der Grundsubstanz des Nucleolus, dem Oxychromatin, zuzuschreiben ist. Dieses letztere ist in diesen Fällen besonders reizbar, es dehnt sich zentrifugal vom Kern in das Plasma aus und bringt zugleich das Nuclein als Baustoff an die zu verstärkenden Membranen. Mit Ausbildung dieser oxychromatischen Stränge im Plasma überträgt sich natürlich auch die Reizempfindlichkeit auf den Protoplasten. Wie Wärme wirkt also auch Kontaktreiz ausdehnend auf die Grundsubstanz des Nucleolus. — Ich hatte früher (1904) bereits darauf

[1]) Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung der Gefäße und Tracheiden. Inaug.-Diss. Marburg 1891.

aufmerksam gemacht, daß beim lokalen Verdickungsprozeß der Kern häufig an einer oder mehreren Stellen zu einer Spitze ausgezogen erscheint und daß an denselben häufig Körperchen anzutreffen sind, welche sich wie der Nucleolus färben und den Harperschen Centrosphären[1]) an die Seite gestellt werden müssen. Damals nahm ich an, daß es auch extranucleare Nucleolen sein könnten, bin aber heute überzeugt, daß die schnabelförmigen Verlängerungen des Kernes die bekannten Brücken mit ihren basichromatischen Körnchen darstellen. Fig. 12 (Abhdlg.: »Wanderung nucleolarer Substanz während der Karyokinese usw.«) zeigt die von basichromen Körnchen ausgehenden oxychromatischen Bahnen, auf denen das Nuclein zu seinem Bestimmungsorte gelangt. Dasselbe gilt auch für die lokal sich verdickenden Epidermiszellen von *Olea aquifolia* (siehe ebendaselbst Fig. 14—16). Die oxychromatischen Bahnen sind identisch mit Strasburgers Kinoplasmafäden. Die Strukturen, welche wir soeben an Laubmoosen beschrieben haben, decken sich in ihrer Entwicklung und Funktion so auffallend mit den von Harper an den Asken von Erysiphe usw. beobachteten Vorgängen, daß man nicht umhin kann, sie als gleichartig anzusehen. Die »Strahlensonne«, welche nach Harper von der »Centrosphäre« ausgeht, sind Chromatinemissionen von Oxy- und Basichromatin. Die Umbiegung der Radien derselben um den Kern vor unmittelbarer Membranbildung dürften auf Kontraktionswirkungen des reizbaren Chromatins zurückzuführen sein, die vom Nucleolus ausgehen. (Man beobachte die Abbildungen 19, 20, 21 bei Harper.) Damit stimmt auch die Beobachtung des Autors, daß in diesen Phasen die nucleolare Substanz, sowie das Chromatin im Kern wieder zunimmt; und damit das Kernvolum. Die sich umbiegenden Radien verschmelzen auf beiden Seiten des Kernes zu je einem großen Oxychromatinstrang, auf dem das Nuclein reichlich vorhanden ist. Das hierauf einsetzende starke Weiterwachsen dieser beiderseitigen Stränge im Plasma bis zur gegenseitigen Vereinigung um den Kern, dürfte wieder der Expansion der nucleolaren Grundsubstanz und speziell dem Nucleolus beizumessen sein. Nach Harper speichert das entwickelte Sporenhäutchen (Erysiphe) bei Gentiana-Safranin-Orange-Färbung den blauen Farbstoff (S. 266). Das Nuclein färbt sich nun bei dieser Tinktion blau. Mit Ehrlich-Biondi würde man eine intensive Methylgrünreaktion erhalten. Wieder ein Beweis, daß höchstwahrscheinlich ausschließlich Nuclein zur Häutchenbildung verwendet wird. Ob bei der Umwandlung in Cellulose speziell dem Nuclein eigentümliche Enzyme mitwirken, steht noch dahin. Auf

---

[1]) Kernteilung und freie Zellbildung im Ascus. Jahrb. f. wiss. Bot. XXX. 1897.

die Vermittlung durch Kernbrücken bei der Chromatinemission weisen ferner folgende Angaben HARPERS (S. 250) hin: »Das Chromatingerüst erscheint dort, wo die Centrosphäre liegt, gleichsam befestigt und bildet dort häufig eine verdickte Masse. Meist zeigen sich Chromatinfasern auch gegen diese Stelle in bestimmter Weise orientiert. Die ganze Erscheinung weist auf das bestimmteste darauf hin, daß »Chromatin und Centrosphäre durch die Kernwand hindurch in Verbindung stehen.« (Von mir gesperrt.) Bis auf die »Kernwand« ähnelt die Beschreibung des Autors meinen Beobachtungen. Über die Entstehung der Strahlenbildung konnte HARPER keine endgültige Entscheidung fällen. Er läßt es zweifelhaft, ob sie infolge besonderer Anordnung des Cytoplasmas entständen oder ob sie aus der Centrosphäre hervorgingen. Von unsrer hier des öfteren vertretenen Anschauung aus stellen sie Oxychromatinprotuberanzen mit Nuclein dar, die ihren Ausgang vom Endkörnchen der Kernbrücke nehmen und auf den Plasmawabenwänden in das Cytoplasma des Ascus gelangen. Für diese Auffassung spricht auch wieder die Anschauung HARPERS, daß die Substanz der Strahlen unter Mitwirkung des Kernes entstünde. (Von mir gesperrt.)

III. Nuclein und Fortpflanzung.

An der Hand einer Reihe vegetativer Prozesse in der Pflanzenzelle ist versucht worden, die Bedeutung des Nucleins als physiologisch ernährenden, das Wachstum des Zellorganismus nach verschiedenen Richtungen fördernden Faktor nachzuweisen. Bei den verschiedenartigen Modi pflanzlicher Embryobildung tritt die Bedeutung des Nucleins besonders charakteristisch hervor.

Wir wissen aus den Untersuchungen von ZACHARIAS [1]), daß pflanzliche Eikerne vieler höherer und niederer Pflanzen nur spurenhaft Nuclein aufweisen, daß z. B. der Eikern von *Marchantia polymorpha* nach diesem Autor keine nachweisbaren Mengen dieser Substanz mehr besaß. Anderseits konnte STAUFFACHER z. B. bei *Helleborus*, *Leucojum* fertige Embryosäcke mit bedeutenden Mengen von Nuclein feststellen. STAUFFACHER zieht hieraus den Schluß, daß letztere mehr zur spontanen Samenbildung hinneigen, da sie die Bedingungen dazu (Nucleinreichtum) in sich selbst trügen [2]). Nucleinarme ♀ Sexualzellen sind aber unter allen Umständen

[1]) Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern. Progr. rei bot. III. 1910.

[2]) Die Rolle des Nucleins in der Fortpflanzung. Sep.-Abdr. a. d. Verh. der Schweiz. naturforsch. Ges. 94. Jahresvers. Solothurn 1911. Bd. I.

auf Nucleinzufuhr von außen, also auf Befruchtung, angewiesen. Hier bieten nun wieder die Embryosäcke der Liliaceen ein charakteristisches Bild. Das Nuclein schwindet während der Ausbildung des Embryosackes bis zum fertig entwickelten Ei immer mehr und der Kontrast mit den umgebenden somatischen Zellen wird immer auffallender. Der Aufbau des ♀ Geschlechtsapparates war hier mit sehr starkem Nucleinverbrauch verknüpft. Das Weiterwachsen der Eizelle kann hier durch den nucleinreichen ♂ Kern gewährleistet werden.

Nach meinem Dafürhalten tragen die Vorbedingungen zur spontanen Embryobildung alle diejenigen Pflanzenzellen, denen eine genügende Menge Nuclein zur Verfügung steht. Hierher gehören die Fälle von Parthenogenesis, somatischer wie generativer Apogamie, Symmixis. Der genügende Gehalt an Nuclein braucht nun jedoch keineswegs an die doppelte Chromosomenzahl gebunden zu sein, wie die bis jetzt bekannten Fälle von *Lastraca pseudomas* var. *cristata apospora Druery* und *Nephrodium molle* Desr. zeigen[1]). Hier werden Prothalliumzellen ohne Verdoppelung der Chromosomenzahl zum Embryo weiterentwickelt; und es entsteht ein Sporophyt mit der halben Chromosomenzahl. Interessant ist ein Vergleich sexuell entstandener pflanzlicher Embryonen mit parthenogenetischen gleichaltrigen. Während bei ersteren das Nuclein meist nur auf die Kerne beschränkt ist, findet sich bei den letzteren Kern und Plasma mit Nuclein prall angefüllt.

Zusammenfassung.

In vorliegenden Ausführungen sollte gezeigt werden, von welcher Tragweite die Bedeutung der beiden Kernsubstanzen für das Zellenleben der Pflanze ist. Bei den verschiedensten physiologischen Funktionen spielen Nuclein und Plastin die Hauptrolle, während die Rolle des Cytoplasmas eigentlich sehr in den Hintergrund tritt, und für die sich unter der Energie der Kernsubstanz abspielenden Wandlungen in der Zelle mehr die vermittelnde Folie abgibt. Das Cytoplasma scheint vorzüglich ein System von Transportwegen darzustellen, vermittels welcher die Substanzen des Kernes in die entlegensten Teile der Zelle gelangen können. Einen eigentlichen direkt nachweisbaren Abbau plasmatischer Substanz vermochte ich nirgends nachzuweisen. Auch eine Unterscheidung zwischen Kino- bzw. Trophoplasma im alten Sinne dürfte wohl nicht mehr ange-

[1]) Winkler, Über Parthenogenesis und Apogamie im Pflanzenreiche. Progr. rei bot. II. 1908.

bracht sein, zumal wir wissen, daß die »Kinoplasmafasern« die Wabenwände des Cytoplasmas zur Grundlage haben, auf welchen sich Oxy- und Basichromatin fortbewegen. Dieselbe stoffliche Beschaffenheit haben die sogenannten Mitochondrien, Plastochondrien, Centren usw. Nicht anders verhält es sich mit den ergastoplasmatischen und verwandten Bildungen. Selbst die so heiß umstrittene Frage nach dem Ursprunge der Chlorophyllkörner muß dahin entschieden werden, daß wir es mit Kernderivaten zu tun haben. Auch bei den bekannten Vorgängen der Verholzung von Gefäßen, Tracheiden, lokalen Wandverdickungsprozessen, der freien Zellbildung, wird das Nährmaterial wohl fast ausschließlich vom Kern bestritten. Die restierenden Plasmareste sind meist noch so beträchtlich, daß eine aktive Betätigung des Plasmakörpers mindestens nur sehr gering erscheint. Die Mikrosomenanhäufung, die man beim Aufbau lokaler Wandverdickungen beobachten kann, sind Kernderivate, die in das Plasma auf die oben erläuterte Weise gelangt sind. Unter diesen Gesichtspunkten wächst die Bedeutung des Kernes gegenüber der des Cytoplasmas ganz außerordentlich und man wird nicht fehlgehen, den Centralpunkt aller Lebenserscheinungen der Zelle, sowohl der tierischen wie der pflanzlichen, im Nucleolus zu suchen.

Auerbach (Hessen), im August 1913.

Literaturverzeichnis.

Arnoldi, Wl. Materialien zur Morphologie der Meeressiphoneen. II. Bau des Thalloms von Dictysphaeria. Flora. Bd. V. Hft. 2. 1913.

Bouin, M. und P., Sur la présence de filaments particuliers dans le protoplasme de la cellule mère du sac embryonnaire. Bibliographie anatomique. 1898.

Browne. E. N. Study of the Male germ cells in Anodonta. Journ. of Experimental Zoology. Vol. XIV. Nr. 1. 1913.

Chmielewsky, V. Eine Notiz über das Verhalten der Chlorophyllbänder in den Zygoten der Spirogyra-Arten. Bot. Ztg. 1890.

v. Derschau, M. Die Entwicklung der Peristomzähne des Laubmoossporogoniums. Sep.-Abdr. Bot. Centralbl. Bd. LXXXII. 1900.

—— Wanderung nucleolarer Substanz während der Karyokinese und in lokal sich verdickenden Zellen. Sonderabdr. a. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXII. Hft. 8. 1904.

—— Beiträge zur pflanzlichen Mitose, Centren, Blepharoplasten. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLVI.

—— Über Kernbrücken und Kernsubstanz in pflanzlichen Zellen. Sonderabdr. a. Archiv f. Zellf. Bd. VII. Hft. 3. 1911.

—— Beziehungen zwischen Zellkern und Pyrenoiden bei den Chlorophyceen. Zool. Mitt. a. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1909.

Duesberg, J. und Hoven, H. Observations sur la structure du protoplasma des cellules végétales. Anatom. Anzeiger. Bd. XXXVI. 1910.

Fohrenbacher, A., Die Chondriosomen als Chromatophorenbildner. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXIX. 1912.

Haberlandt, Über die Beziehungen zwischen Funktion und Lage der Zellkerne bei den Pflanzen. Jena 1887. — Physiol. Pflanzenanatomie. 3. Auflage. 1904.

Harper, R. A. Kernteilung und freie Zellbildung im Ascus. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXX. 1897.

Hottes, Ch. F. (Vgl. Strasburger, Reduktionsteilung, Spindelbildung.)

Heidenhain, M. Neue Untersuchungen über die Centralkörper und ihre Beziehungen zum Kern und Zellenprotoplasma. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XLIII. 1884.

Koernicke, M. Über die Wirkung von Röntgen- und Radiumstrahlen auf die Pflanzen. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1905.

Küster, E. Über die Beziehungen der Lage der Zellkernes zu Zellenwachstum und Membranbildung. Flora. Bd. XCVII. S. 23. 1907.

Lange, Th. Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung der Gefäße aus Tracheiden. Inaug.-Diss. Marburg 1891.

Lewitzky, G. Über die Chondriosomen in pflanzlichen Zellen. Sonderabdr. a. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXVIII. Hft. 10. 1910.

—— Vergleichende Untersuchungen über die Chondriosomen in lebenden und fixierten Pflanzenzellen. Vorl. Mitt. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXIX. 1912.

Lidforss, B. Über Kinoplasmatische Verbindungsfäden zwischen Zellkern und Chromatophoren. Univ. Arsskr. Lund. N. F. IV. 1908.

Löwschin, A. M. Myelinformen und Chondriosomen. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXXI. Hft. 4. 1913.

Magnus, W. Studien an der endotrophen Mycorrhiza von Neottia nidus avis. Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXV. 1900.

Meves, Fr. Über das Vorkommen von Mitochondrien bzw. Chondromiten in Pflanzenzellen. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1904.

Miehe. Über Wanderungen des pflanzlichen Zellkerns. Flora. Bd. LXXXVIII. 1901.

Němec, B. Das Problem der Befruchtungsvorgänge usw. Berlin 1910.

Palla. Über Zellhautbildung kernloser Plasmateile. Ber. d. Deutsch bot. Gesellsch. Bd. XXIV. 1906.

Pensa. Alcune formazioni endocellulari dei vegetali. Boll. Soc. Med. chir. di Pavia 1910.

Roncati, N. Formazioni mitochondriali negli elementi sessuali maschili dell'Helleborus foetidus L. Estratto dal Boll. della Soc. bot. ital. 1910.

Rudolph, K. Chondriosomen und Chromatophoren. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXX. Hft. 9. 1912.

Russo, A. Archiv f. Zellforsch. Bd. VIII. Hft. 2.

Schiller, J. Über die Entstehung der Plastiden aus dem Zellkern. Österr. bot. Zeitschr. 1909.

Schrammen, R. Über die Einwirkung von Temperaturen auf die Zellen des Vegetationspunktes von Vicia faba. Verhandl. d. naturh. Vereins d. preuß. Rheinlande. Bd. LIX. 1902.

Stauffacher, H. Beiträge zur Kenntnis der Kernstrukturen. Sonderabdr. a. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCV. Hft. 1. 1910.

—— Neue Beobachtungen auf dem Gebiete der Zelle usw. Ebendaselbst. Bd. XCVIII. Hft. 3. 1911.

Stauffacher, H. Die Rolle des Nucleins in der Fortpflanzung. Verhandl. schweiz. naturf. Ges. 94. Jahresvers. Solothurn 1911. Bd. I.

Strasburger, E. Über Reduktionsteilung, Spindelbildung, Centrosomen und Cilienbildner im Pflanzenreiche. Histol. Beiträge 1900.

Townsend. Der Einfluß des Zellkerns auf die Bildung der Zellhaut. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXX. 1897.

Tischler, G. Die Bildung der Cellulose. Biol. Centralbl. Bd. XXI. 1901.

v. Wasielewsky, W. Theoretische und experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Amitosen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXVIII. 1903.

Winkler, H., Über Parthenogenesis und Apogamie im Pflanzenreiche. Progr. rei bot. II. 1908.

Zacharias, E. Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern. Progr. rei bot. III. 1910.

Erklärung der Figuren.

Tafel XVII.

Fig. *a*. *Tulipa Gesn.* ♀ Archesporzelle, die »Mitochondrien« zeigend. Vergr. 600.

Fig. *b*. *Fritillaria imperialis* ♂ Archesporzelle mit »Mitochondrien«. Vergr. 600.

Fig. 1—16. Chlorophyllkörnerbildung. (Vergrößerung 400—1000 fach).

Fig. 1—5. *Lilium Martagon.*

Fig. 6, 7, 9, 12, 13. *Chrysanthemum leucanthemum.*

Fig. 8. *Platanthera bifolia.*

Fig. 10, 11. *Chlora perfoliata.*

Fig. 14, 15. *Viola tricolor.* (In vivo).

Fig. 16. *Prunus cerasus.* (In vivo).

Fig. 17. Kerntätigkeit bei der lokalen Wandverdickung der Peristomzähne (*Funaria hygrometrica*). Vergr. 1000.



del. v. Derschau Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig u. Berlin Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena.

A Comparative Study of the Chromosomes in the Spermatogenesis of Enchenopa binotata (Say) and Enchenopa (Campylenchia Stål) curvata (Fabr.).

By

Sidney I. Kornhauser.

(Contributions from the Zoölogical Laboratory of the Museum of Comparative Zoölogy at Harvard College, No. 244).

With 8 Textfigures and Plates XVIII—XXII.

Synopsis.

I. Introduction.

The work on this paper was done at the Zoölogical Laboratory of Harvard University during the years 1909 to 1912, and at the Biological Laboratory of the Brooklyn Institute at Cold Spring Harbor, Long Island, during the summers of 1908, 1910, and 1911. I am especially indebted to Professor E. L. Mark of Harvard University for his guidance and advice in directing my work, and to Dr. C. B. Davenport, of Cold Spring Harbor, for his many valuable suggestions and aid, which permitted me to obtain and study an abundance of material during three summers. I also wish to express to those who aided me in procuring material appreciation of their services, likewise to Mr. Ignaz Matausch, Professor E. D. Ball and Mr. C. W. Johnson for the loan of specimens, and to Mr. E. P. Van Duzee, Professor E. D. Ball and Professor Herbert Osborn for their opinions regarding the systematic relation of the species considered.

The paper is an attempt to follow in some detail and in a comparative manner the behavior of the chromosomes in the spermatogenesis of two nearly related membracids, *Enchenopa binotata* (Say) and *Enchenopa* (*Campylenchia*[1]) *curvata* (Fabr.). The insects in question not only bear a marked resemblance to each other externally (Plate XVIII, Fig. 1 and 2), but the general make-up of their chromosomal complexes is quite similar (Plate XIX, Figs. 15, 18, 20—28 and Plate XIX, Figs. 33—38); however, there is this one marked difference, *E. curvata* has a definite and well marked unpaired "*X*-chromosome"[2]); *E. binotata* has no such unpaired chromosome.

[1]) As there is some question whether or not *Campylenchia* (Stål) is a well founded subgenus of *Enchenopa*, I shall consider "*binotata*" and "*curvata*" as members of the genus *Enchenopa* Am. et Serv. A discussion of this question follows in the text.

[2]) "*X*-chromosome" or "*X*-element" refers to the unpaired chromosome found first in *Pyrrhocoris* by Henking ('91) in his study of the spermatogenesis of that insect and designated by the letter "*X*" in his figures. It was later called the "accessory chromosome" by McClung, the "heterotropic chromosome" by Wilson, and the "monosome" by Montgomery.

II. Synopsis of Previous Papers on the Chromosomes in Hemiptera.

The literature on the spermatogenesis of the Homoptera (Hemiptera homoptera) may be said to begin with the study of *Cicada tibicen* by Wilcox ('95). His material consisted of only three specimens, which did not show division stages. He states, however, that the spermatogonia contain 12 chromosomes, and the spermatocytes of the first order 24 spheroidal bodies and one or two nucleoli. From his figures or account, we gain no evidence for or against the presence of "sex-chromosomes" in this insect. Ten years later Stevens ('05a, '05b) described the spermatogenesis and oögenesis of a number of aphids. Both spermatogonia and oögonia were described as having the same (even) number of chromosomes in a given species, and therefore no "*X*-chromosome" in the male, although one chromosome was described as lagging in the anaphase of the first spermatocyte division ('05b, Figs. 217—218). Later, however, when the works of Morgan and of von Baehr on the aphids and phylloxerans had appeared, she (Stevens, '09b) reexamined her material and showed that this lagging chromosome was in reality an "*X*-element", and that the male possessed an odd number of chromosomes in the spermatogonia. Both Morgan ('08, '09) and von Baehr ('09) have shown that the males of *Aphis*, *Phylloxera*, and *Pemphigus* have a definite "*X*-element", which in certain cases, as in *Phylloxera caryaecaulis*, may be represented by two chromosomes, and that this "*X*-element" passes to that one of the two secondary spermatocytes which finally gives rise to two functional spermatozoa, while the other secondary spermatocyte, lacking the "*X*-element", degenerates. The male is produced parthenogenetically from an egg which reduces its "*X*-chromatin" through maturation to one half that of the female soma. In turn, since only females are produced from fertilized eggs, only "female determining" spermatozoa, those with an "*X*-element", mature.

Stevens ('06) also described the spermatogenesis of *Aphrophora quadrangularis*, one of the Cercopidae, a family not distantly related to the Membracidae. This form agrees closely with *E. curvata* in the behavior of its chromosomes. It possesses a single "*X*-element", which, like that of most of the Orthoptera, passes undivided to one of the secondary spermatocytes. She also figured a pair of very large curved chromosomes[3]) and a pair of small "*m*"- or micro-chromosomes.

---

[3]) A similar pair of large chromosomes occurs in *E. curvata* and *E. binotata*, as well as in several other Homoptera. I shall refer to them as the macro-chromosomes, or "*M*-chromosomes".

The paper which bears most directly on the present work is that of Boring ('07), which deals with the spermatogenesis of twenty-two species of the Membracidae, Jassidae, Cercopidae, and Fulgoridae. She includes here short accounts of the chromosomes in the spermatogonia, and in the first and second spermatocytes of both the species which I have studied. In the case of *E. curvata*, I am able to confirm, in the main, her observations. In *E. binotata*, however, I cannot substantiate her conclusions, which are based upon a tentative account of material which she herself considered unsatisfactory and puzzling. In her final conclusions she states that the spermatogonial number is uneven (19) and that there is a definite "*X*-element" (Boring '07, Fig. 123, the largest chromosome in the figure). This, unlike the condition of the other twenty-one species examined by her, divides in the first maturation division, but in the second division passes undivided to one pole (Boring '07, Fig. 135 *a*—*b*). She, however, counted two spermatogonial plates with 20 chromosomes. This I can show beyond doubt to be correct for both the male and female of *E. binotata* in diploid number; also that there is no lagging, unpaired chromosome in either division. This fact, however, does not preclude the formation of two kinds of spermatozoa, as I shall try to show in the following description.

The work hitherto done on the Homoptera deals mainly with the number and distribution of the chromosomes in regard to sex-determination. In the Heteroptera (Hemiptera), however, we have more detailed studies on the question of syndesis and reduction. This order of insects has been studied for many years and by numerous investigators. The combinations and distribution of the "sex chromosomes", first discovered by Henking ('91) in this group, present a variety of conditions, and in no other order has such a discordance of conclusions on similar objects been reached. One merely needs to mention such forms as *Anasa*, *Pyrrhocoris*, *Syromastes* and *Euschistus* to bring this fact to mind. Thanks mainly to the efforts of Wilson (Studies on chromosomes, I—VII) and his students, many of the errors of the earlier investigators, including Henking, Paulmier, Montgomery, and Gross, have been brought to light, and we now have a fairly clear and precise knowledge of the relation of the chromosomes in both sexes, and the behavior of the "sex"- and "*m*"-chromosomes in spermatogenesis. Recently Morrill ('10) has shown that the matured egg of certain Coreidae contain the number of chromosomes expected from the study of the spermatogenesis and from the oögonial numbers. Foot and Strobell's ('07) contention over the non-existence of an "*X*-element" in *Anasa* (based mainly on smear pre-

parations, which they were the first to employ) has been answered by LEFEVRE and McGILL ('08), whose work agrees with that of WILSON. That smear preparations often present very misleading appearances, I shall try to show in this paper. HENKING ('91), PAULMIER ('99), GROSS ('04a, '04b, '06), WILKE ('07), and MONTGOMERY ('11) have dealt in some detail with the formation and composition of the tetrads in spermatogenesis of various Hemiptera, and with the deportment of the tetrads in the maturation divisions. With the revival and increased study of the question of the syndesis, and the evolution of the gemini found in the first spermatocyte, much has been done in the past ten years to give us a better idea of the early and later stages of the growth period. HENKING's conclusions with regard to the composition of the tetrads is confirmed by more recent work. This is also true of PAULMIER's conclusions, although the method of conjugation by metasyndesis may be questioned. GROSS' interpretation of the formation of the tetrads, by the lengthening of the short arms of cross tetrads of early prophase of the first maturation division, has not been substantiated by further investigation. Nor have we any case parallel to that of WILKE ('07), who describes the same number of chromosomes in the spermatogonia and spermatocytes of Hydrometra, and concludes that the tetrads are univalent, being made up by the end-to-end conjugation of half chromosomes. This results in prereduction and synmixis by metasyndesis of unlike halves. In *Hygrotrechus*, a near relative of *Hydrometra*, MONTGOMERY ('06) has found the spermatogonial number (21) and reduced number (11) to be in accord with that of other Hemiptera possessing an unpaired "X-chromosome".

BROWNE ('10), in a paper entitled "The Relation Between Chromosome-Number and Species in *Notonecta*", gives a very interesting comparison of the chromosomes in several species of these closely related insects. The diploid number of chromosomes in *Noctonecta undulata* is 26, in *N. irrorata* 24. This reduction in number in *irrorata* comes about by the tendency of a small autosome pair to fuse with a larger autosome pair. *N. insulata* represents transitional conditions (between *N. undulata* and *N. irrorata*) in this fusion, sometimes exhibiting 24 and sometimes 26 chromosomes. There is however, another possibility, namely that the smaller number of chromosomes (*N. irrorata* 24) is the more primitive condition and that the larger number (*N. undulata* 26) has come about by a tendency of the large autosome pair to separate into two autosome pairs. WILSON ('11a) has also shown that in *Nezara* there exists a compound chromosome, probably made up of a small and large pair fused together laterally in the form of a butterfly.

Recently MONTGOMERY ('11) has brought together in a more detailed way his results obtained from the study of *Euschistus*. He follows the entire history of the chromosomes and the cytoplasmic structures. He claims parasyndesis with prereduction for this insect.

III. Material and Methods.

Enchenopa curvata was obtained in large numbers either by "sweeping" in meadows containing clover and golden rod, or merely by picking the insects from the individual plants. The insects were transported to the laboratory, and a supply was kept on hand in several large insect cages containing potted clover plants. The cages were kept in the sunlight. The insects lived very well, mated, and layed eggs in large numbers, deep in the tissue of the clover stems. Nymphs before the final moult (Plate XVIII, Figs. 3, 4) were obtained in June. These are remarkable in showing no external sexual dimorphism, the abdomen ending in a tube of telescoping segments, a striking difference to that of the adult female, for instance, with her well formed ovipositor for piercing the stems (Plate XVIII, Fig. 6, middle row, third individual from the left). These nymphs do not have the sex glands well developed, and it is better to obtain material from adults. Adult males appear earlier in June than the females and show numerous spermatogonial and spermatocyte divisions. A little later they also contain mature spermatozoa. The females shortly after the last moult have very small ovaries, which increase greatly in size later in the season, until they fill the abdomen almost completely. Males become very scarce in August, whereas the females live longer and lay best during that month. The absence of males is accounted for by the fact that copulation takes place before the females have produced mature eggs, the spermatozoa living for some time in the spermatheca.

Considerable numbers of *E. binotata* were obtained in Pittsburgh and in Cold Spring Harbor feeding on the locust, *Robinia pseudacacia* L. These were kept alive near the laboratory by enclosing them in large cylinders of absorbent cheese cloth slipped over branches of small locusts and closed at the ends by cords tied with bow knots. The insects lived well, mated, and layed eggs. In *E. binotata*, the laying season lasts into late September.

The same methods of preservation and staining were used in both species. In addition to *E. curvata* and *E. binotata*, I also obtained material of the large membracid *Thelia bimaculata* (Fabr.), and of the fulgorid

Amphiscepa bivittata (Say), and I shall at times refer to certain features in the spermatogenesis of these Homoptera in connection with *E. curvata* and *E. binotata*. The testes and ovaries were dissected, under a dissecting microscope, from the living insects in physiological salt solution and immediately transferred to the fixing fluid. For the testes and young ovaries, Hermann's fluid, Flemming's fluid (strong) and Bouin's fluid were principally employed. Hermann's fluid gave the best fixation, the clearest figures and the finest cytoplasmic preservation. It has less tendency than Flemming's fluid to increase the contraction at synizesis. Flemming's fluid was used according to the method employed by Meves und Duesberg ('08), viz. treated, after fixation, with pyroligneous acid and chromic acid and stained in crystal violet and alizarin. Bouin's fluid makes the chromosomes appear sharply defined, but is not satisfactory for studying the growth period in spermatogenesis. Whenever possible, the material was immediately embedded. The chloroform method, with evaporation at low temperature, was employed and sections were cut five micra in thickness. Heidenhain's haematoxylin, with Bordeaux red or Congo red as counterstains, was found to be the best method of staining. Crystal violet and alizarin, although failing to establish the presence of a definite mitochondrial mass, gave most excellent figures for the study of the growth period, and differentiated the "X-element" well. Safranin and Lichtgrün, Flemming's triple stain, gentian-violet and thionin were also used on sections of testes in both species.

Smear preparations were made by crushing the testis and spreading its substance as evenly and quickly as possible over the surface of the slide, and then inverting the still moist surface over a dish of warm Flemming's fluid. The vapor of the fluid immediately condensed on the surface of the preparation and generally prevented its drying, although at times the edges did dry. The smears, after exposure to the fumes for about five minutes, were washed in running water and then stained in Heidenhain's haematoxylin.

Testes crushed in physiological salt solution containing a small amount of neutral red were examined in the fresh condition. They showed the chromosomes and spindles, which corresponded well with those of the fixed material.

IV. Systematic Relation of the Insects.

In making a comparison of the chromosomes of two nearly related animals, it is well to know, as far as possible, their exact systematic relation.

Both species have a wide distribution, being found practically all over the United States. I have examined not only my own specimens, about 800 of *E. curvata* and 310 of *E. binotata*, collected in New York, Pennsylvania and Massachusetts, but also the collections of the Philadelphia Academy of Natural Sciences, those of Mr. I. Matausch, those in the Boston Society of Natural History, and those of the Museum of Comparative Zoölogy. These collections include specimens from all parts of the United States. Both *E. binotata* and *E. curvata* are extremely variable in external form. Especially is this true of the pronotal horn, which has been used by Stål as the basis for subdividing the older genus *Enchenopa* Am. et Serv. into subgenera, of which *Campylenchia* is one. Figure 6 (Plate XVIII) shows some of the more common variations of *E. curvata*. These specimens were selected from individuals all of which were gathered in the same field. My specimens of *E. binotata*, however, were more constant, showing a much smaller range of variation. Nevertheless, I have secured some unusual forms from different localities, which are shown in Figure 5, Plate XVIII. The males in both species are smaller than the females, and have a shorter pronotal horn. The generic distinction between *Enchenopa* and *Campylenchia* is not satisfactory, being founded, as Professor E. D. Ball says, on "evanescent characters". Mr. E. P. van Duzee states in a letter that the difference between *Enchenopa* and *Campylenchia* is merely one of degree of development, and that it is all but impossible to draw a line between the two. In the present paper, I shall consider *binotata* and *curvata* as species of the genus *Enchenopa*.

Although each species, *E. binotata* and *E. curvata*, is variable in itself, the two are certainly distinct species. *E. binotata* has two yellow spots on the back (Fig. 1, Plate XVIII, more distinct in the upper figure), while *E. curvata* is self colored (Fig. 2, Plate XVIII). There are also certain differences between the two in their habits of feeding and ovipositing. Both species deposit their eggs in the tissue of the food plant and for this purpose are provided with long knife-like ovipositors, by which a slit is made in the stem or branch. *E. binotata*, living on the locust, has its ovipositor admirably adapted for cutting the hard bark and wood and spreading apart the edges of the cut for the reception of the eggs. The eggs are not placed so deeply in the tissue as those of *E. curvata* and the exposed ends are covered with a white sticky "frosting", which is the product of a pair of large glands, one of which, with its reservoir, is shown at *gl.muc.* in Figure 9 (Plate XVIII). *E. curvata*, on the other hand, lays its eggs in the pith of clover and other small non-woody plants;

the edges of the cut close immediately and are not "frosted" over. It is quite clear that *E. binotata* is a less plastic form than *E. curvata*, and certainly more specialized. This is also shown by the restriction of *E. binotata* to specific food plants, while *curvata* is a more general feeder. It is also an interesting fact that some internal parasites of *E. binotata* (larvae of certain diptera) are not found in specimens of *E. curvata* occurring in the same locality. The parasite apparently has not yet adapted itself to this species. The specific difference of the two species is substantiated in a most emphatic way by constant differences in their chromosomes, twenty being the diploid number in the males of *E. binotata* and nineteen that in *E. curvata*.

V. Structure of the Testes and Ovaries.

The testes of both *E. curvata* and *E. binotata* are so much alike that a single description will serve for both species, and the same is true of the ovaries. The testes (*te.*) are paired, and each testis consists of eight conical tubules (*tbl.*, Fig. 7, Plate XVIII) with their free or apical ends pointing anteriad. The tubules join at their basal ends and the mature spermatozoa pass through the vas deferens (*va.df.*) into the large vesicula seminalis (Plate XVIII, Fig. 7 *vsl.sem.*). A longitudinal section of the free end of a tubule more highly magnified (Plate XVIII, Fig. 8) shows the large apical cell, with its long processes, surrounded by undifferentiated spermatogonia and by young cysts. Following this, toward the basal end, one sees larger cysts in various stages of growth, of maturation and of differentiation into spermatozoa. The sequence from younger to older stages corresponds fairly closely to the arrangements of these cysts from the apical end to the basal end of the tubule.

The ovaries are also paired, and each consists of eight ovarioles (Plate XVIII, Fig. 9). Each ovariole (*oal.*) ends anteriad in a terminal chamber (*cam.trm.*), which is attached to the dorsal region of the thorax by a long thin terminal filament (*fil.trm.*). In the terminal chamber arise ova and nutritive cells, the latter supplying a stream of nutritive substance to the developing follicles in the egg string. The older eggs are posterior, and usually only a single one in each ovariole is full grown. The two oviducts (*o'dt.*) unite into a short single uterus (*ut.*), which bears the large spermatheca (*sp'thc.*) and in *E. binotata* the large mucilaginous glands (*gl.muc.*). For the study of the diploid groups of chromosomes, sections of very young ovaries in which only the terminal chamber and very young ova had developed were found best. Here many mitoses

were encountered, usually in two regions: near the attachment of the terminal filament and near the base of the chamber or Keimlager (Plate XVIII, Fig. 10).

VI. Observations on Spermatogonia and Oögonia.

A. Enchenopa binotata.

Spermatogonia of several generations occur at the apex of each tubule and are usually limited to the space bounded by the radiating protoplasmic processes of the large apical cell. At the extreme tip of the tubule are spermatogonia not enclosed in cyst walls. Often a single one is seen dividing (Plate XVIII, Figs. 11, 12), and this division is the first in a series of divisions the cells resulting from which belong to a single cyst. Small spheroidal cysts of 8, 16, or 32 cells are found close to these primary spermatogonia and below these, interlaced by processes of the apical cell, are older cysts. The last spermatogonial division of a cyst occurs when the cyst has reached the lower limits of the processes of the apical cell; here a large percentage of entire cysts degenerate (*E. binotata*; Plate XVIII, Fig. 8; *E. curvata*, Plate XVIII, Figs. 11, 12) and are utilized, I believe, as nutritive material for the earlier spermatogonial generations, the work of assimilating and redistributing this material being done by the apical cell. Some of the evidences for this conclusion are as follows:

First, the substance of the degenerating cysts gradually decreases, leaving large spaces between the broken down cells; moreover, ruptures in the cyst wall are sometimes found in immediate proximity to the long processes of the apical cell, and the degenerating cells themselves are occasionally found imbedded in the protoplasm of this immense nurse cell. When degenerating cysts are present, the cell body and processes of the apical cell are large and easily traceable; but when no degenerating cysts are being absorbed, the processes are small. At such times the nucleus is often surrounded on one side by a deeply staining mass (Plate XVIII, Fig. 13), which may be made up of waste products accumulated during the period of high metabolic activity and thrown out of the nucleus during the period of lower metabolic activity; for the nucleus contains very little basic staining material during the period in which the cell is accumulating substance.

Secondly, the critical period in the life of a cyst is immediately after the last spermatogonial division, for at no other point in the tubule is there evidence of degeneration; it is only in the region of transition from

the last spermatogonial telophase to the early leptotene stage that this phenomenon occurs.

A comparison of cells of the last spermatogonial generation (Pl. XIX, Figs. 17, 18, 19) with those of earlier generations (Plate XIX, Figs. 14, 15, 16) from the same tubule shows that the degree of stainability in the quiescent period increases in the later generations and that the chromosomes in division, although more closely massed, are not noticeably smaller than those of earlier generations. The chromatin, therefore, increases from generation to generation more rapidly than the other constituents of the cell. It is possibly the lack of non-chromatic elements, upon which the chromatin should distribute itself, and the difficulty of interchange between nuclear and cytoplasmic substance which cause the cells to degenerate. The chromatin becomes vacuolated, hyaline and clumped together in irregular masses.

There are twenty chromosomes in the spermatogonia (Plate XIX, Figs. 15, 18, 20—23), the most noticeable ones being a large pair, the macrochromosomes (*M*), which are often somewhat curved and occasionally show a constriction at the middle. Sometimes the second largest pair can also be made out, but the others cannot be paired accurately, nor is it possible to distinguish any single one of the eighteen smaller chromosomes which differs from the others in size, in staining reactions, or in any other way, sufficiently to allow its being identified with either a large or a small idiochromosome. These conclusions are substantiated by the fact that in all the gemini formed by the union of the chromosomes in pairs in the first maturation division the components of each pair are of equal size.

After comparing the relative value of smears and sections in studying the chromosome numbers in spermatogonia, I am convinced that sections are far more reliable. Smears, in fact, are often misleading. Although the chromosomes are well separated in smears (Plate XIX, Fig. 24), yet there is a tendency for the long macrochromosomes to separate into two, thus giving the appearance of twenty-two chromosomes. Since in *Anasa* the *X*-chromosome is as long as the macrochromosomes in *Enchenopa*, it is possible that we may here have an explanation of the fact that Foot and Strobell count 22 chromosomes in smears of this species, whereas Wilson ('05a, 05b), Montgomery ('06), and Lefevre and McGill ('08) find only 21. The material at my command in the form of sections was very abundant and always showed with remarkable clearness twenty well defined chromosomes, never nineteen, which was the number previously reported by Boring ('07). My conclusion is based on the study

of a large number of nuclei, many of them carefully drawn. The chromosomes are well separated and stand out with a clearness not exaggerated by the drawings. The chromosomal counts were made exclusively from material fixed in HERMANN's fluid, which gives the clearest images. In no animal in which I have made counts was there to be found any variation from the normal number.

While there were deeply staining chromatic bodies in the quiescent nuclei of early generations of spermatogonia, these were of such variable size, shape, and number that it was impossible to establish the identity of any of them with the pair of sex chromosomes of the spermatocyte. Nor was there any constancy as to the size and number of chromatic nucleoli until the last spermatogonial division was reached. Figure 14 (Plate XIX) shows a condition characteristic for the quiescent nucleus of earlier generations. Near the centre of the nucleus are found a few chromatic bodies, usually ill defined. In figure 17 (Plate XIX) — a quiescent nucleus of the last spermatogonial generation — a well defined chromatic body is present and also a less deeply staining chromatic nucleolus. These two chromatic bodies are found with great constancy, the less deeply staining one being often larger than the darker more compact body. This gives the first clew to the condition found in the growth period of the spermatocyte, where a single pair of chromosomes behaves differently from all the others.

The chromosomes of the oögonia were studied in sections of young ovaries. While the number of counts made was not so large as in the case of the spermatogonia, owing to the difficulty of obtaining perfectly flat equatorial plates, still I feel quite certain that the number is twenty. Figures 25—28 (Plate XIX) represent cases in which there was not the least doubt as to the correctness of the counts made. While the size of the cells and of the chromosomes in the terminal chamber of the ovary is rather variable, yet the relative sizes of the chromosomes in a given cell compare exactly with those of the spermatogonia. In all cases the pair of macrochromosomes (*M*) is very easily identified, and sometimes the second largest pair is also recognizable. As in the male, it is impossible, from an examination of the diploid group, to recognize any sex chromosome.

B. Enchenopa curvata.

The relation of the spermatogonia to the apical cell is similar to that in *E. binotata*; degenerating cysts are present also and show the same conditions as in *E. binotata*. Figures 11 and 12 (Plate XVIII) reproduce two successive sections cut at an angle of about thirty degrees

with the longitudinal axis of a tubule. At the tip of the sections may be seen a single spermatogonium in anaphase. Figure 11 (Plate XVIII) shows part of the nucleus of the apical cell, and processes of cytoplasm may be followed to the degenerating cyst on the right. Figure 12 (Plate XVIII) shows part of the cytoplasm of the apical cell, likewise degenerating cells at both right and left of it. In Figures 39—44 (Plate XIX) are shown types of degenerating cells. They closely resemble figures by Flemming ('87) of degenerating cells in the testis of *Salamandra*, by Wilcox ('95) in the testis of *Cicada*, by Schäfer ('07) for *Dytiscus* and by Buchner ('09) for *Oedipoda*; but I do not think that one is likely to confuse them with synizesis, as claimed by Buchner ('09).

The younger cysts are spherical and the spermatogonia are roughly conical, their apices pointing toward the center of the cyst (Plate XIX, Fig. 29). During the entire quiescent period there remain in the nucleus deeply staining chromatic centers, which lie close to the nuclear membrane and are connected with one another by achromatic fibers. Figures 30 and 31 (Plate XIX) are optical sections of a single spermatogonium at different levels. After a series of counts, I am convinced that these chromatic centers correspond in number to the spermatogonial chromosomes, and represent the centers about which the chromosomes form preceding the spermatogonial divisions. This is also substantiated by the manner in which the chromosomes arise in the prophase, these resulting from condensations of the chromatin at particular points in the nucleus, rather than from the segmentation of a spireme thread. While the chromatin aggregates into comparatively short, well defined, longitudinally split rods, apparently independent of each other, still the rods remain in connection with one another by means of linin fibers, throughout the entire process of mitosis. The prophase chromosomes can never be confused with the chromatin of early stages in the growth of the spermatocytes, which exhibits long thin chromatic threads. In the spermatogonial mitoses the halves of the chromosomes separate simultaneously, the daughter chromosomes never adhering by their ends.

The number of chromosomes in the spermatogonia of *E. curvata* is nineteen (Plate XIX, Figs. 32—36), as was contended by Boring ('07). Here, also, the large pair, the macrochromosomes, is the most striking characteristic. They are usually a little more curved than those of *E. binotata*, but are of practically the same size, judging from camera drawings. Here also the second largest pair may sometimes be distinguished, but the remaining fifteen cannot be paired with accuracy, nor is it possible here to distinguish the single unpaired chromosome by its size or staining reactions.

It has been impossible to establish the identity of the X-chromosome by its behavior at any stage in the spermatogonial generations. Not until the chromosomes of the telophase of the last spermatogonial division had become indistinct, did a well marked deeply staining nucleolus appear.

The oögonial number of chromosomes in *E. curvata* is twenty (Plate XIX, Figs. 37, 38), one more chromosome being present in the female diploid group than in the male diploid group. The macrochromosomes and the second pair in size can here be recognized, and the remaining chromosomes agree well with those of the male. It is impossible to recognize in the oögonia which is the pair of X-chromosomes. A study of the first spermatocytes shows that the X-chromosome is one of the smaller round chromosomes, not differing greatly in size from the components of the eight smaller bivalent chromosomes. This makes it impossible to distinguish with certainty the X-chromosome in the spermatogonia, or the pair of X-chromosomes in the oögonia, from the other sixteen small chromosomes. Reasoning from work on other hemiptera, — *Protenor* (Montgomery, '01, '06; Morrill, '10) and *Anasa* (Montgomery, '06; Wilson, '06; Morrill, '10), where the X-chromosome is characterized by its size from all the other chromosomes, and is represented in the female by two X-chromosomes, — we are safe in assuming that the difference in the number of chromosomes between the male (19) and female (20) of *E. curvata* is due to the presence of 2 X-chromosomes in the female soma.

In *Thelia bimaculata*, a membracid, the X-chromosome is the largest of the 21 chromosomes in the spermatogonia (Plate XXI, Fig. 191). In the female diploid group (Plate XXI, Fig. 192) there are two large chromosomes and the whole number is 22. The size of the X-element in this species is well brought out in the growth period and mitotic stages of the first spermatocyte (Plate XXI, Figs. 193—198). This is merely additional proof of the kind offered by *Anasa* and *Protenor*, and extends the facts to the family Membracidae, of which *Enchenopa curvata* and *Enchenopa binotata* are members.

C. Comparison of the Diploid Groups of Enchenopa binotata and Enchenopa curvata.

In *E. binotata* the chromosomal numbers are 20 in the male and 20 in the female: in *E. curvata* 19 in the male and 20 in the female. A comparison of the spermatogonial and oögonial groups of *E. binotata* and *E. curvata* shows a great similarity, not only in the relative size of the

chromosomes, but also in actual size[4]). The large pair (*M*) is present in both species. The one great difference in the spermatogonia is the presence of eighteen small chromosomes in *E. binotota* as compared with seventeen in *E. curvata*. From a study of the maturation divisions of *E. curvata*, we know that one of the seventeen is an unpaired *X*-chromosome. In *E. binotata*, on the contrary, we have ten bivalent chromosomes in both maturation mitoses, none of which are composed of asymmetrical halves. We are therefore led to the conclusion that, if any sex chromosomes are present in *E. binotata*, they must be paired and equal in size. This would be contrary to all cases so far reported among the Homoptera, and only one such case, that of *Oncopeltus* (Montgomery, '01, '06; Wilson, '11a), remains among the Heteroptera, since Wilson ('10a, '11a) has found his former description of *Nezara* ('05a) to be incorrect. Montgomery ('06) claimed that the idiochromosomes of *Nezara hilaris* were of unequal size. In the Heteroptera the components of the idiochromosome pair usually remain separate in the first maturation division and pair only in the second division. This gives a clew to the presence of definite sex chromosomes, which are usually unequal in size. Since the maturation mitoses afford no evidence which enables us to determine the presence of definite sex chromosomes in the spermatogonia of *E. binotata*, we are left entirely to the study of the growth period of the spermatocytes for any facts which may lead us to believe that they are present.

VII. Growth Period of Spermatocytes.

A. Enchenopa binotata.

After the last spermatogonial division, the autosomes can not be followed directly as individuals through the various stages leading up to the formation of the leptotene threads. The nuclei of the early spermatocytes are characterized by a very fine network, along which the chromatin granules are scattered. At the points where the fibers forming the network unite, the chromatin forms larger masses, which give the nucleus a characteristic dotted appearance (Plate XIX, Fig. 45). The net-

[4]) It is of utmost importance, in making comparisons of the size and shape of chromosomes in different species to use material which has been fixed and stained in exactly the same way. Thus Figure 36 (Plate XIX) represents a spermatogonium of *E. curvata* from a testis killed in Bouin's fluid. While the chromosomes are clear and distinct, yet they differ greatly from those killed in Hermann's fluid (*E. curvata*, Figs. 32 to 35; *E. binotata*, Figs. 20—23), being more angular and having the curvature of the macrochromosomes increased.

work is finer and the particles more evenly distributed than during the quiescent periods of the spermatogonial generations. One deeply staining chromatin nucleolus is present and also a second, less deeply staining, body, which is often larger than the first, but less distinct in outline. Following this stage the chromatin granules gradually assemble along definite portions of the network leaving many of the linin threads devoid of chromatin (Plate XIX, Fig. 46). The chromatic nucleolus is no longer visible, but one often finds instead a fine deeply staining thread, which probably owes its origin to this body, although it has been impossible to follow the history of the chromatic nucleolus continuously.

The chromatin next forms definite threads (Plate XIX, Fig. 47), which later become more distinct, finer, and less ragged (Plate XIX, Figs. 48, 49). At no time was a continouous spirem found, but the leptotene threads remain connected to one another by fine linin fibers throughout this stage. The number of the leptotene threads could not be determined with accuracy owing to the tortuous form and scattered arrangement of the threads. However, in cells killed in Hermann's fluid (Plate XIX, Fig. 49), in which the threads were loosely scattered and distinct, one can be sure that their number corresponds fairly well with the diploid number of chromosomes[5]); that the number is greater than the reduced number of chromosomes is certain.

At the edge of sections stained in crystal violet or Heidenhain's haematoyxlin following fixation in Hermann's fluid, many nuclei of the leptotene stage show a single straight non-granular and deeply staining thread (Plate XIX, Figs. 47, 48). Several cases were found, such as that shown in Figure 48, where one end of this dark thread had united with a broader less deeply staining thread.

Transitions from the leptotene to the zygotene condition could be followed in single cysts, but in no case could a gradual transition in thickness from the single to the double threads be found. Only occasionally did nuclei present a polar arrangement of the leptotene threads (Plate XIX, Fig. 50) at a stage when they run side by side before their union, such as has been described by the Schreiner's for *Myxine*, *Tomopteris*, *Spinax* and *Salamandra*, by Janssens for *Alytes*, and by Agar for Lepidosiren. Leptotene and zygotene threads appear in the same nucleus and often two leptetene threads partially united along their lengths were found

[5]) In none of the figures have I attempted to draw all the threads in the nucleus, for the overlapping threads seen at different focusses would give a far more confused appearance than that seen in the object itself. Optical sections, or actual sections, of cells have been employed for the sake of simplicity whenever required.

(Plate XIX, Figs. 51, 52). The union never takes place by a twisting of two threads about each other, but merely by the parallel approximation of two single threads, which show the plane of union as a light straight line when the thread is viewed at a favorable angle. The zygotene threads, showing their doubleness well in osmic acid material, soon enter the bouquet stage, with the free ends of the loops pointing toward one side of the nucleus, that is, toward the positive pole (Figs. 53, 54, 55). The presence of a centrosome at this pole could not be determined in my material. Stages where one (or more) of the zygotene threads had not yet formed a complete loop, as in Figure 53, were often encountered. I could not detect at this stage an exact correspondence of the granules of the two components of the double threads such as has been maintained by adherents both of metasyndesis and of parasyndesis. In *E. curvata* the granules are more distinct, and I shall refer to them in the description of that species.

As the polar arrangement of the loops is assumed, there is a gradual shortening and thickening of the threads to the pachytene condition. It is here that synizesis occurs, which, however is not of long duration. In properly fixed material, especially that fixed in Hermann's fluid, the chromatin never clumps together into a shapeless, homogeneous mass, but the shortened loops, which crowd together at one side of the nucleus, maintain their general form and position, exhibiting their doubleness when cut in cross section. The threads soon become longer and less deeply stained, and show the light longitudinal cleft more clearly (Plate XIX, Fig. 55). This is the stage most favorable for a study of the double threads. Side views show that there is always one loop (Fig. 55 *M.*) which is longer than any of the others, and this doubtless corresponds to the pair of macrochromosomes seen in the spermatogonia. Another characteristic is the presence of a single pair of deeply staining threads which do not form a loop (Plate XIX, Fig. 55). This pair is peculiar in several other ways. The halves are often united by one end merely (Fig. 54), and only later become approximated throughout their entire length. But by far the most striking peculiarity is the difference in structure exhibited by the components of this pair, one (x) being compact and homogeneous, the other (y) more like the members of the autosome loops; however, the latter (y) stains more deeply than the autosome threads and is made up of larger and more distinct granules (Plate XIX, Fig. 55 xy). This pair can be followed through the entire growth period, appearing with remarkable clearness in the stages following the polar arrangement of the loops. Its distinctness depends, however, a great deal on the degree

to which the stain is extracted. In favorable cells, corresponding to that of Figure 55, but seen in end view (Fig. 56), one can distinguish, by its compactness, this deeply staining pair from the eighteen ends which correspond to nine longitudinally double loops, or to the eighteen autosomes of the spermatogonia.

After the polar arrangement is lost, the loops can still be followed and counted. Figure 57 shows all ten loops; the line of union of the components of each loop being still clearly visible. The increase in size of both cytoplasm and nucleus is noticeable at this stage. The growth continues until the beginning of the formation of the tetrads in the late leptotene stage, when the maximum cell size is reached. As the autosome loops elongate and become less distinct, the deeply staining pair also increases in size and is more conspicuous (Plate XIX, Figs. 58, 59, 60), its halves being again strikingly different from each other; one (x) is a solid rod of chromatin, the other (y) a beaded string of chromatin granules of various sizes. While the members of this pair are fused together at one end only, they are never in intimate contact any where else, although generally they are exactly parallel. It can hardly be doubted that they arise from the pair seen in Figures 48 and 54 (xy) by their end to end fusion followed by parallel apposition of the threads throughout their whole length. That the affinity for each other of the two chromosomes forming this pair is not so great as that displayed by the pairs forming the autosome loops, is shown by their slowness in becoming parallel, by the space between them when parallel, and by their early separation, which has already begun in the stage represented by Figure 60 (Plate XIX).

As seen in the study of the spermatogonia (Plate XIX, Figs. 15, 18, 20—23), there were twenty chromosomes in *E. binotata*, not nineteen as previously reported by Boring ('07). This author describes one of the nineteen as a large curved x-chromosome, which makes its appearance in the growth period as a long twisted deeply staining body. That this "deeply staining body" represents a pair of chromosomes, is shown not only by its own structure and origin, but also by the spermatogonial counts. It therefore cannot represent an x-chromosome, but must be an allosome pair, differing less from the autosomes in behavior than do the idiochromosomes of the Heteroptera, even where these (*Oncopeltus fasciatus* and *Nezara hilaris*) are of equal or nearly equal size. These are the only paired allosomes so far described in the Homoptera. It can not be doubted that they differ from the autosomes and that the halves, judging from the amount and character of the chromatin in each of them, are not of equal value. Since they lead to the formation of two sorts of

spermatids, as will be shown farther on, they can certainly be associated with the so-called "sex-chromosomes". I shall therefore designate them as the *xy* pair; *x* being darker, more homogeneous, and richer in chromatin than *y*, its mate.

The beginning of the strepsistene condition is characterized by the separation of the threadlike chromosomes forming each of the double loops. That this separation coincides with the line of apposition of the chromosomes during syndesis cannot be doubted, for at no time has there been a complete fusion of the components of the double threads, the light longitudinal cleft being always evident. The separation may begin either at one end or along the middle of each pair (Plate XIX, Figs. 60, 61). Often both ends of a pair remain connected while the chromosomes lengthen out and twist about each other (Plate XIX, Figs. 62, 64, 65). Later they stain more diffusely, thus becoming less distinct than in the early strepsistene stage.

The components of the *xy* pair separate along their entire length early in the strepsistene stage (Plate XIX, Fig. 61), but still retain their deep stainability. The *y*-component now shows its beaded conditions to a less extent than at an earlier stage, and stains nearly like the autosomes, but darker. The *x*-component shortens and remains deeply stained (Plate XIX, Figs. 62—65).

The formation of the tetrads from the twisted strepsistene threads will be described in more detail in *E. curvata*, where the process can be observed with greater clearness. In brief, it is this: the partially separated halves of the paired twisted threads shorten, stain more deeply, gradually untwist and each component of a pair splits longitudinally. The longitudinal split is a true division of each chromosome, such as occurs in the early prophase of the somatic and spermatogonial mitoses, and can in no way be confused with the separation of the components of the diploid threads which were formed by the parallel union of pairs of chromosomes in syndesis. Often the pairs of chromosomes remain connected at both ends, forming rings. Especially is this evident in the macrochromosome pair. Soon, however, the two extremities where the chromosomes are joined together to form rings, become differentiated from each other. That which is to persist in the formation of the tetrad corresponds to the short arms of the cross-shaped tetrads and marks the point of separation of the chromosomes in the first spermatocyte division. Each chromosome is flattened or band like and this end is somewhat broader than that opposite. When one views face wise the ends of the chromosomes that remain in contact during the formation of the tetrad.

it is seen that the ends are in contact at their thin edges by thick fibres, but that elsewhere they are separate; thus an oval opening appears between the two ends, as seen in the ring occupying the upper part of Figure 66 (Plate XIX). The opposite end, where the union is only temporary, shows no thickening, and the ends are united only by fine linin fibres. With the shortening of the chromosome bands, these narrower ends separate from each other, and the linin fibers are thus soon stretched apart and become invisible before the tetrad has become completely straightened out (Plate XIX, Figs. 67, 68, 70). The longitudinal division of each chromosome band becomes more noticeable as the tetrads become less ragged and more deeply stained (Figs. 68, 70). The shorter chromosomes usually separate at one end in the strepsinema, and in condensing form U's and V's. These straighten out, thus giving rise to short tetrads, usually in the form of crosses (Plate XIX, Figs. 67—69). There are eight of these, which correspond to the sixteen small autosomes of the spermatogonia, and they form the eight small dumb-bell shaped tetrads of the first spermatocyte (Plate XIX, Figs. 67—69)[6]).

In addition to the macrochromosome tetrad and the eight small tetrads, we have still another double chromosome, the *xy* pair, which we have already followed to the strepsinema (Plate XIX, Fig. 65). The *x*-component was there represented as short and deeply stained, the *y*-component as longer and granular. Between the stages represented by Figures 65 and 66, this pair could not be followed. When, however, the tetrads became less scattered through the nucleus, it could be distinguished in three ways: 1. by its staining reaction, 2. by the dissimilarity of its two component parts, and 3. by the method of union between the components. This pair stains more deeply than the ordinary tetrads before complete condensation, the *x*-component being noticeably darker than the *y* (Plate XIX, Fig. 66). The *y*-component is larger and less regular in outline, and it often shows one or more light regions quite devoid of chromatin. Neither shows a longitudinal division. The two are connected by a single, short, deeply staining strand, which is probably referable to the intimate end-to-end union of this pair (Plate XIX, Figs. 54, 58—61). A little later, the *y*-component also condenses and stains quite as deeply as the *x*-component (Plate XIX, Figs. 68, 70). The rod of chromatin connecting the two components appears with great clearness; it is in this

[6]) Figure 67 (Plate XIX) is drawn from a smear preparation made without drying, and fixed in fumes of Flemming's fluid while still moist. There is in this case little distortion of the chromosomes or cell body, as may be observed by a comparison with sections.

form that they enter the first spermatocyte division. The x-component is now of practically the same size as the y-component.

B. Enchenopa curvata.

The history of the autosomes in the growth of the spermatocytes of *E. curvata* presents nothing fundamentally different from that of *E. binotata.* There are, however, several points of interest, which are worthy of consideration: first, the disposition of the chromatin granules in the zygonema and strepsinema; secondly, the formation of the macrochromosome tetrad; and, thirdly, the behavior of the x-chromosome and its relation to the autosomes and chromatic nucleoli.

The beginning of the growth period in *E. curvata* is marked by the gradual condensation of the chromatin along definite lines of the very fine network into which the spermatogonial chromosomes of the last generations have resolved themselves (Plate XX, Fig. 71). When the leptotene threads first appear, they preserve in their angular courses an indication of their origin from a chromatic network. They are loose in texture, and connected one with another by fine linin fibers (Plate XX, Fig. 72). In preparation for syndesis, the threads lose their angularity, and also become finer and more distinct (Plate XX, Fig. 73). Here, also, it is possible to make only approximate counts of the leptotene threads, on account of their tortuous condition. I am convinced, however, that their number is nearer that of the spermatogonial chromosomes than of the spermatocyte or reduced number.

The parallel union of the threads is shown in *E. curvata* even more clearly than in *E. binotata*, and often in a nucleus containing many leptotene threads, one or two zygotene threads are found which are frequently parallel in pairs either along their whole length or part of their length (Plate XX, Figs. 76, 77). A polar arrangement of the leptotene threads was not found in *E. curvata.* Figures 74, 75, and 77 (Plate XX) show the first zygotene threads forming in nuclei in which most of the chromosomes are in the leptotene stage. It is not unusual to find a pair of long threads united at both ends, but not in close contact along their entire lengths (Plate XX, Figs. 74, 75, 78).

When the double chromosome threads have been formed, they assume a definite polar arrangement. The ends of all the loops usually point toward one side of the nucleus; but occasionally exceptions were found in which a loop was inverted. A comparison of the chromatin granules on either side of the interchromosomal cleft of each double loop shows that very often the granules do not coincide either in size or position.

While this is true for only the early zygotene stage, yet it argues against the origin of the double threads by a longitudinal division. Soon the loops shorten to the zygopachytene condition and the nucleus goes through the stage of synizesis. The loops remain distinct, although they are closely crowded together and very deeply stained. Gradually the loops loosen out and the bouquet stage is entered upon.

As in *E. binotata*, there is present one very long loop, which can be seen in side views of the bouquet stage. It doubtless represents the pair of macrochromosomes, which are easily distinguished in the later stages of the growth period. The macrochromosome loop often bends so that its apex (middle of the bend) comes into close approximation with the apex of one of the shorter loops. These loops, seen in profile, then show, where they approach each other, a light line, which at first might be interpreted as the point of union of two chromosomes (Fig. 80) and used as an argument for metasyndesis. Careful focussing, however, shows that this is not the case, but that the light line, such as seen in figure 80, is between two independent loops, not a point of approximation of half loops. In polar views one can follow the contours of each loop, and their apices do not show any evidence of end to end conjugation. Moreover, if this light line seen in side views were the line of fusion between two chromosomes, it would be necessary to explain why the conjugants are very frequently of such different lengths.

The total number of autosome loops can be got by counting the ends of the loops at the positive[7]) pole of the nucleus. There are eighteen such ends, which correspond to nine double chromosomes. The longitudinal or interchromosomal cleft is often plainly visible in these polar views (Plate XX, Fig. 81).

As the loops give up their regular polar arrangement, the cytoplasm and nucleus both increase in volume; the threads become narrower and less deeply stained, and they do not show the interchromosomal light line very distinctly. Figures 82—84 give three successive optical sections of a cell at this stage in which all nine autosome loops could be followed from end to end. These sections are combined in the diagram Figure A. I have not attempted in this diagram to indicate the doubleness of the threads or the distribution of the chromatin granules, but merely represent the extent of the loops and their relation to the nucleolus and to the x-chromosome.

[7]) I designate as "positive" pole of the nucleus the pole toward which the free ends of the loops are directed.

The *X*-chromosome is conspicuous throughout the entire growth period. It can be seen as a deeply staining body in the early leptotene nuclei (Plate XX, Figs. 71, 72), and it soon applies itself to the nuclear membrane at the side of the nucleus toward which the ends of the zygotene loops later converge, that is, at the positive pole of the nucleus. Here, in the early bouquet stage, it is seen as a rounded knob-like mass of chromatin attached to a larger chromatic body, which is either flat or elongated into a rod (Fig. 80). A little later the *x*-chromosome elongates and becomes club shaped, the narrow end pointing toward the positive pole of the nucleus, where it terminates in a mass of very deeply staining chromatin. This mass of chromatin, in close connection with the *x*-chromosome, is at first single, then it becomes bilobed (Plate XX, Figs. 83, 84), and usually divides into two, or sometimes three, chromatic nucleoli (Figs. 85, 86), which often remain in direct connection with the *x*-chromosome (Plate XX, Figs. 89—93). As illustrated in textfigure A, the autosome loops do not come into close contact with the *x*-chromosome, but they do converge toward the chromatic nucleolus. When this nucleolus breaks up into two or three nucleoli, each portion remains in intimate contact with one or more autosomes by means of linin fibers (Plate XX, Figs. 85, 92, 93), which radiate from the nucleoli like the spokes of a wheel. Since these nucleoli usually remain connected with the *x*-chromosome (Figs. 89, 90, 92, 93), they form a secondary means of connection between the *x*-chromosome and the autosomes. These chromatic nucleoli, deeply stained, are very conspicuous in the strepsinema until the autosomes become very hazy in outline; then they become more granular, gradually give up their stainable substance, grow smaller, though still exhibiting radiating fibers (Plate XX, Figs. 94, 95), and finally disappear before the tetrads arise (Fig. 96). The chromatic nucleoli are doubtless those seen and figured by Boring ('07, p. 490, Plate IV, Fig. 113) and designated by her as *m*-chromosomes

Textfigure A.

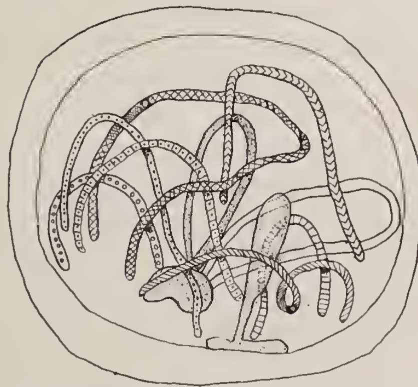


Diagram of first spermatocyte of *E. curvata*, based on Figures 82—84 (Plate XX), representing the end of the bouquet stage. Nine loops (actually double), the x-chromosome and the chromatic nucleolus are shown.

on account of their stainability in the growth period. There are, however, many facts which argue against their identity with the m-chromosomes of Wilson: namely, 1. that there is no small compact pair of chromosomes in the prophase of the first spermatocyte division; 2. that these chromatic nucleoli are variable in number and size; 3. are often in direct connection with the x-chromosome, and 4. lose their stainable substance in the late leptotene stage.

The x-chromosome itself exhibits a variety of forms. Very often it is club shaped (Plate XX, Figs. 82, 86, 93—95) and contains a large vacuole, the chromatin being peripheral and concentrated more toward one end. The presence of the fluid-filled vacuole gives the x-chromosome the appearance when seen in optical section (Plate XX, Fig. 86) of being longitudinally divided. There is a clear area of cytoplasm around the x-chromosome, which is not traversed by the double loops. Possibly there is a repulsion between the autochromatin and the x-chromosome, or its by-products, due to some special metabolic activity of this body. In the late strepsistene stage the vacuole of the x-chromosome disappears and the chromatin condenses into a deeply staining rod, which is usually somewhat bent and may even become ring shaped (Plate XX, Figs. 91, 96—100). Later this shortens and forms a deeply staining spherical chromosome, while the autosomes are still tetrads of a ragged form (Plate XX, Fig. 101, 120). It is seen to be attached to one or more tetrads by linin fibers (Plate XX, Fig. 101, 120); these may possibly represent the former connections between the x-chromosome and the chromatic nucleoli which have disappeared during the formation of the tetrads.

The autosomes have been described only as far as the stage where the polar arrangement of the double threads (Plate XX, Figs. 82—84) was being lost. As this proceeds further, the interchromosomal clear line becomes more distinct and there appears to be an exact correspondence in the size and position of the chromatin granules on either side of the line. Inasmuch as this was not true of the early zygotene threads, it must be a secondary condition. It seems improbable that the granules have changed position automatically, but we may find a possible mechanism for this rearrangement in the shortening of the threads to the zygopachytene condition of synizesis — which brings the granules into close contact — and in their subsequent elongation. For, as the linin basis of each loop expands, those chromatin granules which are approximated in pairs and have an affinity for each other might remain together. The early strepsistene stages (Plate XX, Figs. 87, 88, 90) show the pairing

of the granules best, for the portions of the threads between the granules gradually lose their staining capacity. As the chromosomes of the early strepsistene stage separate, they begin to twist about each other; but they remain joined together at one or both ends (Plate XX, Figs. 87, 89, 90). The outlines of the threads become hazy and only the granules stain (Fig. 91). Soon the granules also become smaller and less distinct and finally only ill defined threads of loose texture still in connection with the chromatic nucleoli can be seen (Plate XX, Figs. 92, 93). Then, judging from the scarcity of cells in this stage, for a short period, during which the chromatic nucleoli disappear and the x-chromosome condenses, the substance of the autosomes is very indistinct and can not be traced as individual chromosomes (Plate XX, Figs. 94, 95). The cells at this stage have attained their maximum size and the transition to tetrad formation is rapid, for all the successive stages may be followed in a single cyst.

As the chromatic matter condenses and regains its affinity for basic stains, it is seen to take on a variety of forms. The members of a pair may be twisted about each other several times (Plate XX, Figs. 98, 100), they may lie parallel with each other, being connected at one or both ends (Fig. 96), or they may simply form U's or V's. In following the tetrad formation, I have taken the macrochromosome pair as an example, since they are largest, clearest, and can not be confounded with the smaller tetrads, even in early prophases, on account of their size (Plate XX, Figs. 98, 99). Figures 103 to 118 illustrate some of the various phases which this tetrad may assume. The two chromosomes which form it may be closely united along nearly their whole length (Plate XX, Fig. 103), or they may be twisted about each other while still united at both ends (Fig. 104), or, thirdly, they may be connected at one end only (Fig. 105). This variation doubtless accounts for the different forms which are shown in Figures 106 to 115. The twisted chromosomes contract and split longitudinally. This split usually begins to be noticeable at that end which will lie in the equatorial plane of the spindle at the first spermatocyte division, which is likewise the end of attachment of the two chromosomes to each other in late prophase. The partial separation of the halves of both chromosomes of the tetrad (Plate XX, Figs. 106, 107) leads doubtless to cross-shaped forms, such as are seen in Figures 102 and 114 (Plate XX). The force of the longitudinal contraction of the linin groundwork may cause the production of the short arms of the cross from the partially separated halves, such as seen in Figures 99 and 106 (Plate XX). As the

chromosomes contract, the short arms of the crosses become smaller. Remnants of them remain for some time (Fig. 116); but they disappear before the dissolution of the nuclear membrane. The quadripartite form of the tetrads is usually lost in the last stages of contraction (Fig. 117).

When the chromosomes remain connected at both ends (Figs. 108, 109), either rings or figure-eight tetrads are formed (Plate XX, Figs. 110 to 112). The connection which is to remain until the complete separation of the chromosome in the first spermatocyte division shows an oval opening between the points of union (Figs. 110, 111). The other ends of the two chromosomes are attached to each other less intimately — merely by fine fibers, which are stretched apart (Plate XX, Figs. 113, 115) in the formation of the double-rod tetrad of the first division (Fig. 117 to 119). The rings are not formed by a secondary approximation of the ends of two ribbon-like chromosomes, but are the result of the persistence of the union between the ends of the chromosomes which united in pairs parallel to each other and then in the strepsinema separated only in the region between the two ends. One of these persisting connections is lost before the spindle is formed, the other at the anaphase of the first division. Thus this first maturation division separates whole chromosomes which are connected end to end, and is therefore a prereduction division.

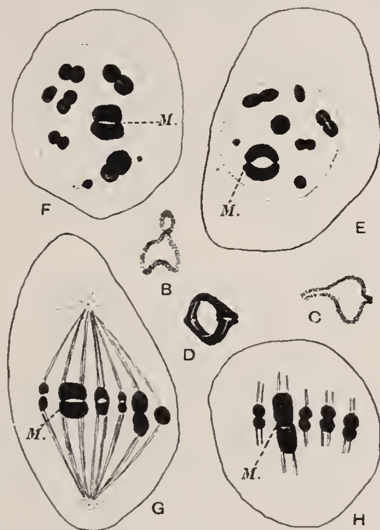
If one compares the macrochromosome tetrad of *Amphiscepa*[8]) *bivittata* Say, with that of *Enchenopa* one finds very interesting similarities and differences. The large tetrad in this fulgorid arises from two very long spermatogonial chromosomes.

The chromosomes of the prophase of the first spermatocyte division before condensing and splitting longitudinally, show points of connection at both ends (Figs. B and C). Later it can be seen that one of these points of union (Fig. D, right hand side) broadens considerably more than the other and shows an oval opening. This union doubtless corresponds to that characterized by the short arms in cross-shaped tetrads, such as shown in Figure 114 (Plate XX). Unlike *E. curvata* and *E. binotata*, the ring form is usually not lost in *Amphiscepa* when the chromosomes contract, but both ends remain connected. The interchromosomal area — the opening of the ring — (Fig D) decreases, changes from a circle to an oval (Fig. E), and finally to a thin slit-like opening, which

[8]) I am indebted to Miss Annie P. Henchman for the use of her very excellent preparations of *Amphiscepa*, from which figures D to H were drawn.

corresponds to the line of union of the chromosomes in syndesis. In this form, parallel to each other along their lengths, the two chromosomes forming this macrochromosome tetrad lie in the equatorial plane of the spindle of the first spermatocyte division (Fig. G). Occasionally the macrochromosome tetrad enters the spindle with the chromosomes end to end (Fig. H). This is due to the loss of the ring form and is similar to the condition found generally in *Enchenopa.* In Figures G and H the same result is attained; that is, whole chromosomes are separated; but in Figure G it is by a longitudinal separation and in Figure H by a transverse separation. Tetrads of both forms were found in neighboring cells of the same cyst.

Textfigures B to H.



Figs. B—H. The macrochromosome geminus in the first spermatocytes of *Amphiscepa bivittata.* Figs. B—C. Macrochromosome geminus of early prophase, previous to longitudinal division. — Fig. D. Same at later stage showing longitudinal differentiation of the ends that are in contact. — Figs. E—F. Late prophase. *M.* macrochromosome geminus. — Fig. G. Spindle of first maturation division. *M.* bivalent with both ends of components in contact. — Fig. H. Samo stage. *M.* bivalent with only one end of components in contact.

Before the first maturation division of *E. curvata*, one can distinguish in both smears (Plate XX, Fig. 121) and sections (Plate XX, Figs. 101, 102) the macrochromosome tetrad, eight small tetrads corresponding to sixteen small autosomes of the spermatogonia, and the round compact x-chromosome with linin fibers radiating from it. The x-chromosome does not usually show the future plane of division, but in smears (Plate XX, Fig. 121) it could sometimes be detected.

C. Comparison of the Growth Period and Tetrad Formation in Enchenopa binotata and Enchenopa curvata.

A comparison of the behavior of the autosomes in the growth period of *E. binotata* with that of *E. curvata* shows that there is a marked similarity between the two species. The double threads of the bouquet stage are formed by the parallel union of pairs of leptotene threads. There are nine of these double loops in the bouquet stage, one of which is much longer than the others, and this doubtless represents the macrochromosome pair seen in the spermatogonia. This long loop forms a ring in the

early prophase, which later straightens out to form the large tetrad of the first spermatocyte. Eight smaller tetrads are formed in each species, and these correspond to sixteen small chromosomes of the spermatogonia.

The allosomes, however, differ greatly in the two species; *E. binotata* has an equal pair of allosomes; *E. curvata* has a single *x*-chromosome, which is of about the size of one of the allosomes of *E. binotata.* The behavior of the allosome pair in *E. binotata* shows that it resembles to a great extent the autosome pairs, inasmuch as its components lie parallel for a considerable period and finally form a double chromosome in the early prophase. The arguments for considering them allosomes have been given in the description of *E. binotata.* They were there designated as the *xy* pair, *x* being richer in stainable substance and remaining compact throughout the growth period; *y* being more granular, looser in texture and less easily recognized in the strepsinema and early tetrad formation.

In *E. curvata* there is a typical unpaired *x*-chromosome recognizable during the entire growth period. It is often in direct connection with two or three chromatic nucleoli, which stain deeply and are connected by linin fibers to the double autosomic threads. It was shown that these nucleoli disappear in the late strepsistene stage by a gradual loss of chromatin. The *x*-element forms a spherical and deeply staining chromosome, which shows its future plane of division only in smear preparations. It is also characterized by distinct linin fibers connecting it to neighboring tetrads. These fibers are again in evidence at the first maturation division.

Comparative Summary up to the First Maturation Division.

	Enchenopa binotata	*Enchenopa curvata*
Spermatogonial Chromosomes	2 macrochromosomes 18 smaller chromosomes	2 macrochromosomes 17 smaller chromosomes
Total	20	19
	Growth Period of Spermatocyte	
Autosomes	1 long double thread 8 shorter double threads	1 long double thread 8 shorter double threads
Allosomes	1 pair allosome threads (*xy* pair)	1 *x*-chromosome + 2 or 3 chromatic nucleoli
Prophase of First Spermatocyte	1 large tetrad 8 small tetrads 2 small allosomes, *xy* pair, connected to each other by a thick deeply staining strand.	1 large tetrad 8 small tetrads 1 small spherical *x*-chromosome connected to tetrads by distinct linin fibers.

VIII. Division of first Spermatocyte.

A. Enchenopa binotata.

In the metaphase of the first spermatcyte division there are seen in the equatorial plate ten chromosomes[9]) connected with one another by fine linin fibers (Plate XX, Figs. 126, 127). The macrochromosome geminus is conspicuous on account of its size. Lateral views of the spindle show this pair extending lengthwise, also eight smaller gemini and the allosome pair (Plate XX, Figs. 122—125). Usually it is impossible to see the longitudinal division of the chromosomes, but it has been possible to demonstrate their quadripartite composition in a rather peculiar and striking manner. Near the edges of material fixed in Hermann's fluid, after staining first in alizarin and then in crystal-violet, when decolorizing with acetic acid, the chromosomes seem to give up the violet stain rather rapidly, but not the alizarin. The result, represented in Figures 119 and 136 (Plate XX), shows each geminus to consist of four deeply staining rods. Sometimes (Plate XX, Fig. 119) the outline of the whole chromosome, stained orange in alizarin, can be seen. In such cases a comparison of the decolorized chromosome with a deeply staining one (Plate XX, Fig. 118) from the deeper portions of the material shows clearly which are the homologous chromosomes. Occasionally a small tetrad which has not yet contracted fully enters the spindle still retaining its quadripartite form (Plate XX, Fig. 128). Gross ('04b) has also found cases similar to this in *Syromastes.*

The allosome pair (Plate XX, Figs. 128—135 *xy*) is characterized by the thick single strand connecting the two components, which show a considerable variation in form. In such cells as Figure 136 (Plate XX) represents this pair has greater affinity for crystal-violet than any of the other chromosomes. The allosome pair stains deeply and fails to show any evidence of a longitudinal division. These characteristics in form and staining reaction are the same as those exhibited by this pair in the late prophase. While there is often a considerable difference in the form of the two components of this allosome geminus, it is impossible to decide by means of either size or form which of the two is the x-component and which the y-component.

[9]) The discrepancy in the size of the chromosomes in different cells is due to the method of fixation employed. The relative sizes of the chromosomes in a single cell remain the same, but after fixation in Hermann's fluid (Plate XX, Figs. 127, 135, 137) the chromosomes appear larger than after the use of Flemming's fluid (Plate XX, Figs. 126, 128, 129).

Figure 137 (Plate XX) represents an early anaphase of the first spermatocyte division. On the left is seen the macrochromosome geminus with two fibers still connecting its component halves. In the middle is the *xy* pair, the connecting strand having just broken. Figure 138 (Plate XX) shows a cell located at the edge of a section stained in crystal-violet after fixation in Hermann's fluid. The *xy* pair has stained deep purple, the autosomes much lighter. The *xy* connecting strand also shows well. The separation of all the chromosomes is synchronous (Plate XX, Fig. 139), the *xy* pair neither preceding nor lagging behind the autosomes. As the chromosomes near the poles of the spindle (Plate XX, Fig. 140), they appear much shorter in side view and often form a nearly flat plate; this enables one to study them in polar views without confusion. Figure 141 (Plate XX) represents a late anaphase group seen in end view. It is composed of ten chromosomes, the macrochromosome, longitudinally split, eight smaller chromosomes also split, and one showing no division. Whether the undivided chromosome is the allosome, which is slow in dividing, cannot be stated with certainty, but in no case was it possible to count more than nine chromosomes which showed the future line of separation of the second division. There is no interkinetic period, the second spermatocyte division following immediately upon the first. Often metaphase stages of the second division and anaphases of the first division are found in the same cyst.

B. Enchenopa curvata.

As in *binotata*, there are ten chromosomes in the metaphase of the first spermatocyte division (Plate XXI, Figs. 142, 143). Side views (Plate XXI, Figs. 144—147, consecutive sections of one cell) show the macrochromosome pair, eight smaller gemini and one single spherical chromosome, the *x*-element, which is usually peripheral in position (Plate XXI, Figs. 142, 147 *x*) and nearer one pole than the other (Figs. 148, 149 *x*). This *x*-element may also be distinguished by the thick linin fibers which connect it to the neighboring gemini. These fibers stain more deeply than those connecting the autosomes with one another and play an important part in the behavior of the *x*-chromosome during the first division. They are, I believe, the same fibers that were seen in the prophase of the first spermatocyte (Plate XX, Fig. 101, 120) and are referable to the connection which existed between the *x*-chromosome and the chromatic nucleoli which, after the bouquet stage, became connected with the autosome loops (Plate XX, Figs. 85, 92, 93).

Occasionally a longitudinal division of the x-chromosome was seen extending in the direction of the spindle (Plate XXI, Fig. 147). This is probably the normal orientation of the x-chromosome, but it may be that it is altered in the anaphase. As the chromosomes separate (Plate XXI, Fig. 150), the x-element, connected to the autosomes, is drawn nearer the axis of the spindle, and as the autosomes approach their centrosomes, it is located between the two chromosome plates, being elongated in the axis of the spindle and still showing plainly the connecting fibers (Plate XXI, Figs. 151, 152). The fibers stain darker than the interzonal filaments and are not necessarily parallel to them, often making a considerable angle with the axis of the spindle. Normally the x-element is drawn nearer to one pole than to the other and is included undivided in one of the two second spermatocytes (Plate XXI, Figs. 153, 154). But in exceptional cases (Figs. 155—163, Plate XXI) the x-element seems to be pulled with equal force by the fibers connecting it with the two groups of chromosomes. In some cases it is turned 90° on its axis (Plate XXI, Figs. 155, 157—159)[10]; in other cases it is simply drawn out in its normal orientation (Plate XXI, Fig. 161) and divided (Plate XXI, Figs. 162, 163).

Abnormal divisions of the x-element have been described by Baumgartner ('04) for *Gryllus* and lately by Stevens ('12b) for *Diabrotica*. Brunelli ('09) has suggested that the division described by Baumgartner was that of a lagging autosome pair and not of the x-element. In *E. curvata*, however, the presence of the thick fibers and a consideration of the usual behavior of the x-element show that here the cases where this element is divided are caused merely by an exaggeration of normal processes.

Normally ten chromosomes pass to one pole and nine to the other. Each shows a longitudinal cleft in late anaphase and immediately enters upon the second division, as in *E. binotata*.

C. Comparison of the First Spermatocyte Division of Enchenopa binotata and Enchenopa curvata.

The behavior of the autosomes is alike in both species. The gemini are elongated in the axis of the spindle. This is most clearly seen in the macrochromosome tetrad, and from the history of this pair of chromosomes it is clear that the spindle fibers are inserted upon those ends of

---

[10]) Figure 159 was made from a smear slide, first dried and then fixed and stained. Only two fibers connecting with the x-element remained visible after this treatment.

the chromosomes which in early prophase were sometimes connected to form the large ring-tetrad (Plate XX, Figs. 110 and 111), but later, as the tetrad shortened, pulled apart (Plate XX, Figs. 113, 115). The first spermatocyte division separates whole chromosomes, which are joined end to end to form gemini in both *E. binotata* and *E. curvata*. The division, being transverse, is reductional and corresponds to the heterotypic division of such forms as often retain the ring form of tetrad in the first division after parasyndesis, as described by the SCHREINERS ('06a) for *Tomopteris* and by JANSSENS et WILLEMS ('09) for *Alytes*.

In *Amphiscepa* (p. 267, Figs. B—H) both ends of the large ring-tetrad often remain connected; the insertion of the spindle fibers is lateral, not terminal, and the first division, though reductional, separates two chromosomes which lie parallel to each other with their long axes transverse to that of the spindle.

In *E. binotata*, the x- and y-components of the allosome pair separate from each other reductionally and neither lag behind nor precede the autosomes in division. In *E. curvata*, the x-element normally passes to one of the two daughter cells undivided. It is always lengthened in the direction of the spindle owing to its attachments to the separating autosomes and is sometimes divided into two parts, although this phenomenon is unusual and probably abnormal.

IX. Division of the Second Spermatocyte.

A. Enchenopa binotata.

There are ten chromosomes in all the second spermatocytes (Plate XXI, Figs. 164—168). The macrochromosome is broad (Fig. 169) and not elongated in the axis of the spindle. When seen in end view (Figs. 164 to 166) it therefore appears larger, in proportion to the other chromosomes, than it did in the first maturation division. The shape of the macrochromosome in this division is correlated with its longitudinal division, which was already seen in Figure 141 (Plate XX).

There is nothing unusual about the second division. The chromosomes separate concomitantly (Plate XXI, Figs. 170—172, 174), and are well separated from one another laterally, so that it is possible to count late anaphases with perfect accuracy (Plate XXI, Fig. 173). In such anaphase plates and in spermatids from smear slides (Plate XXI, Fig. 175, 176, 177) there were always ten well defined chromosomes. I found no evidence of an unequal distribution of the chromosomes

to the two daughter nuclei in the second division, though BORING ('07) described that condition for this species.

In each spermatid one chromosome retains its stainability after the others have become less conspicuous (Plate XXI, Figs. 177—179). This is doubtless the descendant of the allosome pair, and since both the x- and the y-components stained deeply during the growth period and in the first maturation spindle, and since the pair divided in both mitoses, it is only natural to find that all the spermatids possess a deeply staining chromosome. It was impossible to separate the spermatids into two categories depending upon the degree of stainability of this chromosome; but from the behavior of the xy pair in the early growth period, in the prophase of the first spermatocyte and in the maturation divisions, two classes of spermatids must be formed. This is shown in a diagrammatic way in Plate XXII, to which I shall refer later.

B. Enchenopa curvata.

In *E. curvata* equatorial plates of the second division show nine or ten chromosomes with about equal frequency (Plate XXI, Figs. 180, 181). The macrochromosome is often broad and short (Fig. 185), which means that the second division is longitudinal. It is therefore an equational or homeotypic division. All the chromosomes divide and the x-chromosome is not distinguishable from the small autosomes. Figures 186 and 187 (Plate XXI) show two sister anaphase plates from neighboring sections, the plane of section having passed through the equator of the spindle.

Occasionally second spermatocyte metaphases contain nineteen chromosomes (Plate XXI, Fig. 188). This is probably due to the failure of the cell body to divide in the first spermatocyte division. This view receives support from an examination of side views of such double second spermatocytes, for they often show tripolar spindles and other irregularities. Aside from these indications, no giant spermatocytes were encountered, but there were found giant spermatids and giant spermatozoa, which probably owed their origin to these undivided first spermatocytes.

In *E. curvata* there are two classes of spermatids of equal frequency, those containing a deeply staining x-chromosome (Plate XXI, Fig. 189), which are descendents of second spermatocytes with ten chromosomes, and those without a deeply staining chromosome, descendents of nine-chromosome second spermatocytes (Fig. 190). In *Thelia bimaculata* the x-element is the largest chromosome (Plate XXI, Figs. 191—199) and half the spermatids have a large deeply staining chromosome (Fig. 199).

C. Comparison of the Second Spermatocyte Division of Enchenopa binotata and Enchenopa curvata.

In *E. binotata* all the second spermatocytes contain ten chromosomes, which divide concomitantly. Each spermatid receives ten chromosomes, one of which owes its origin to either the x- or the y-component of the allosome pair. A deeply staining chromosome is present in each spermatid.

In *E. curvata* half the second spermatocytes contain nine, the other half ten chromosomes. All these chromosomes divide and there thus arise two classes of spermatids, those with an x-chromosome and those without this element. Half the spermatids show a deeply staining chromosome when the other chromosomes have become granular.

The second division in both species is equational or homeotypic, and the plane of division of the chromosomes corresponds to the longitudinal division first seen in the formation of the tetrads in the early prophase of the first spermatocyte and again evident in the anaphase of the first maturation division, this plane being at right angles to the first plane of division.

While the formation of two classes of spermatids is more evident in *E. curvata* than in *E. binotata*, the history of the xy pair of *E. binotata* leads to the conclusion that here, also, two categories of spermatids are formed.

X. Discussion.

A. Syndesis and the Maturation Divisions.

The importance of the study of the chromosomes in maturation rests upon the following assumptions, partly theoretical and partly observational; 1. that the chromosomes are the bearers of hereditary qualities (Roux-Weismann); 2. that the inheritance of a sexually produced animal is dual and that certain portions, at least, of this inheritance can be resolved into units, which are paired and usually behave independently of each other, being segregated in accordance with the law of probability at the time of the production of germ cells (Mendel); 3. that the chromosomes of a single germ cell are qualitatively different from one another (Boveri, Wilson); 4. that two homologous sets of chromosomes are brought together in the production of a zygote, one set maternal, the other set paternal (Montgomery); 5. that there is genetic continuity of the chromosomes from cell generation to cell generation of the germ cells through all the successive generations — oögonia and oöcytes, spermatogonia and spermatocytes — (Boveri, Sutton); 6. that in the

early growth period of the germ cells there is an intimate approximation of the chromosomes (parasyndetically or metasyndetically) into pairs, each of which is composed of two homologous chromosomes, one maternal, the other paternal (Montgomery); 7. that during the growth period there is either a) a transfusion of substance between the members of a double thread, or b) the two chromosomes fuse together into a single thread, which later may fail to separate along the line of fusion, or c) whole segments (internodes of the strepsistene stage) of the twisted threads are transposed from one chromosome to the other, or d) the chromosomes remain unaltered in themselves and synmixis is brought about by the maturation divisions (rotation, permutation, etc.); 8. that the maturation divisions bring about the separation of chromosomes which are qualitatively unlike, and thus reduce the number of chromosomes (and the determiners) to one half that of the soma cells.

Thus we have two complementary sets of phenomena, one manifested in the inheritance of organisms, the other manifested in the production of their germ cells; there can be no doubt that the rediscovery of Mendel's law has done much to increase the study of maturation of the germ cells and to throw light upon the significance of the processes seen there. It is to Montgomery ('01) first of all that we owe the idea of the pairing of the diploid complex of chromosomes by means of size relations into two groups, one set maternal, the other set paternal, and the formation of the gemini of the first maturation division by the union of homologous pairs of chromosomes of the two groups. Later it was maintained that the chromosomes could be paired, not only in the matter of size, but also because of similarity of form (Baumgartner '04; Blackman '10). Sutton ('03) and Boveri ('04) found in these facts a mechanism for the explanation of the phenomena exhibited in alternative inheritance (Mendelian inheritance). Assuming that the chromosomes of a germ cell are qualitatively different, then in the pairing of the chromosomes previous to maturation allelomorphic pairs of determiners are brought together by the conjugation of homologous chromosomes (one maternal, the other paternal); then, by the separation of the components of the gemini (reduction division) and the inclusion of one set of chromosomes, partly maternal and partly paternal (following the law of probability), in each of the two resulting cells, the members of the allelomorphic pairs would be segregated as required to explain Mendelian inheritance. This would be in perfect agreement with Mendel's law, were a single chromosome the bearer of only one unit character, an assumption which is not, however, borne out by the facts of breeding, for there seem

to be many more units which behave independently in inheritance than there are chromosomes in the germ cells, to say nothing of the disparity in the number of chromosomes in nearly related animals and plants. If, then, each chromosome bears a number of determinants, there must be some mechanism for the redistribution of these determinants other than a mere chance separation of the diploid complex of chromosomes into two unlike groups.

Many phenomena exhibited in the conjugation of the chromosomes have been described in the past ten years and many theories to explain their relation to heredity have been propounded. Theory has often run far ahead of established fact, and the opponents of the chromosomal basis of heredity have not failed to bring this state of affairs to light. The whole question rests mainly on the method of syndesis, the formation of the tetrads, and the meaning of the maturation divisions.

The warmest controversies have arisen over the method of the origin of the double loops seen in the bouquet stage. In spite of the vehement objections of those who maintain that this doubling is merely a longitudinal division (MEVES '08; GOLDSCHMIDT '08b; HAECKER '10, '11), there has been a steady increase in the data, gathered from both zoölogical and botanical research on diverse and often widely separated forms, going to show that the double threads result from the side-by-side union of the chromosomes in pairs. WINIWARTER et SAINMONT ('09) have maintained the position taken by WINIWARTER ('00), that in mammals it is parasyndesis which takes place in the oöcytes. Their view differs from that of the SCHREINERS — who are also strong adherents of parallel conjugation of the chromosomes and have described this method of syndesis for many invertebrates as well as vertebrates ('06a—'08b) — as regards the degree of intimacy of the union between chromosomes. WINIWARTER et SAINMONT claim an absolute fusion of the conjugants, and in this they are supported by BONNEVIE ('11). The SCHREINERS, on the other hand, maintain that the interchromosomal line remains throughout the period of the lateral approximation of the threads and that the line of separation in the strepsistene stage corresponds to the interchromosomal line of the zygotene stage. The facts gathered from the study of *Enchenopa* support the view of the SCHREINERS.

GRÉGOIRE ('05, '09, '10) has upheld the method of syndesis and reduction described by the SCHREINERS and has attempted to apply this method (parasyndesis followed by hetero-homeotypic division) universally to both plants and animals. The first division is reductional and separates the chromosomes which paired side by side; the second division

is equational. This is essentially the type which the SCHREINERS described for *Tomopteris* ('06 a) and used as a model in their subsequent work. Other cases of parasyndesis have been described by AGAR ('11), MONTGOMERY ('11), JANSSENS ('05), and JANSSENS et WILLEMS ('09). JANSSENS ('09) has suggested that synmixis takes place not by transfusion or absolute fusion of the double threads, but by a method which he calls the "chiasmatype". After parasyndesis the chromosomes of a pair, in his opinion, twist around each other in the strepsistene stage and each becomes longitudinally divided. The nodes, where the twisted chromosomes are in intimate contact, fuse and the internodes of the two longitudinally split chromosomes may become transposed from one chromosome to the other. His theory is based upon observations of the amphibian *Batracoseps*. It would seem, however, that the transfer of whole internodes of chromosomes would bring about the coupling of hereditary characters to a greater extent than has been found in breeding experiments (MORGAN '11).

The insects appear to be particulary favorable objects for the study of syndesis and reduction; especially is this true for the groups of Orthoptera, Hemiptera and Diptera. The chromosomes are usually well defined and no such astounding discrepancies in the diploid number of chromosomes and the number in the first maturation spindle of a single form have arisen as in the case of less favorable material, such, for example, as *Zoogonus*, which has been studied by GOLDSCHMIDT ('08 a), the SCHREINERS ('08 b), GRÉGOIRE ('09), and WASSERMANN ('12) with widely different results. Cases of parasyndesis in insects have been described for *Locusta* (OTTE '06; SCHREINERS '06 b), for *Stenobothrus* (GÉRARD '09), for *Ceuthophilus* (STEVENS '12 a), and for *Euschistus* (MONTGOMERY '11). In all these cases, as in *Enchenopa*, the chromosomes of the last spermatogonial division were not followed as individuals to the leptotene stage; but by comparison with other insects, especially Orthoptera in which each spermatogonial chromosome enters a small vesicle of its own (SUTTON '02; DAVIS '08; BUCHNER '09) and retains its individuality, it is not unlikely that the leptotene threads are merely modified chromosomes of the last spermatogonial division. Where a fine network is formed from the spermatogonial chromosomes, as in *Enchenopa*, we cannot say, however, that synmixis does not take place before the leptotene threads are formed.

The union of the leptotene threads does not take place in such an orderly manner in the insects as in the vertebrates described by WINIWARTER, the SCHREINERS, JANSSENS, and AGAR. In the former there

seems to be previous to syndesis no polar arrangement of the threads followed by a gradual parallel union progressing from the positive pole. Instead, leptotene threads, parallel or partially united in pairs, cross one another in an irregular fashion. Gérard has described the formation of a double spirem not by splitting, but by the apposition of the granules from a network into two long tortuous filaments lying side by side and later segmenting.

The cases of parasynapsis described in insects are irreconcilable with the views of those who maintain that there is first a polar arrangement of the threads united end to end in pairs (metasyndetically), and that this is followed by a gradual broadening and splitting of the granules (Davis '08; Buchner '09). In *Enchenopa* it was found that doubling took place before the bouquet stage, that no gradual broadening of the leptotene threads could be discerned, and that the chromatic granules of the double threads in the early zygonema were not symmetrically placed on the two sides of the light longitudinal line of union.

Montgomery ('00, '01, '03, '04) maintained that the chromosomes paired end to end, although he suggested ('01, p. 225) that the bivalent chromosomes of vertebrates might be formed by two univalent chromosomes becoming apposed to each other along their whole length, and that a subsequent opening out of the chromosomes along the line of union, the ends remaining connected, might thus form the ring-shaped chromosomes of heterotypic divisions (amphibians, annelids, and insects). This method of conjugation of the chromosomes (parasyndesis), he finally described for the hemipteron *Euschistus*, and he also convinced himself ('11, p. 754) of the reality of parasyndesis in the amphibian *Plethodon*. The ring-shaped bivalents of the prophase of *Euschistus* originated, not by a secondary approximation of the ends of two chromosomes previously joined end to end into U-form bivalents, but from the persistence of the connections at their ends of two chromosomes which had been parallel along their whole length. This has also been found to be true for the ring-shaped bivalents of *Enchenopa* (Figs. 103—117, Plate XX) and *Amphiscepa* (Figs. B—H). The latter often retained the double connection in the first maturation division. In *Euschistus*, as in *Enchenopa*, the rings do not persist, but straighten out before the spindle is formed.

Recently, Stevens ('12a) has described parasyndesis for the orthopteran *Ceuthophilus*. The method of chromosomal union which she has described is not merely a parallel apposition of two leptotene threads, but, in addition, a twisting of the two about each other. It is here, perhaps, that suitable material for a consideration of Janssens' "chiasmatype"

may be found. Miss Stevens describes the separation of the conjugants in the strepsistene stage as taking place by a process of unrolling. So far as regards *Enchenopa*, the threads are so indistinct in the late strepsistene stage that no evidence could be gathered either for or against synmixis during this stage.

The reasons for believing that the hetero-homeotypic method of division takes place in *Enchenopa* have been given in the description (p. 271—272, 274), the evidence being based mainly upon the deportment of the macrochromosomes. In most of the recent investigations of the spermatocyte divisions in numerous insects, this is the type that has been found to exist. Grégoire ('05, '10) has given a complete review of these cases, as well as of those which differ from this type, namely, those described by McClung ('05), Gross ('04a, '04b, '06), Otte ('06), and Wilke ('07).

B. The Sex-Chromosomes.

During the past several years much has been done to extend our knowledge of the so called sex-chromosomes. A complete history of their behavior in the maturation divisions in both sexes has been followed in the insects (Morrill '10) and in the nematodes (Gulick '11), and the results agree perfectly with the hypothesis first brought out by Stevens and Wilson: namely, that the female is homozygous in regard to sex chromosomes ($2x$), while the male soma is heterozygous (x) or ($x+y$); that (in general) all the matured eggs have the same chromosomal constitution, but that the spermatozoa are of two kinds, those with an x-chromosome, "female determining spermatozoa", and those without an x-chromosome (or with a y-chromosome in place of an x-chromosome) "male determining spermatozoa". It has also been shown that there is a definite association of these heterochromosomes (assuming that they are not the primary determinants of sex, but merely an index of sex) in the case of the sexual and hermaphrodite generations of the nematode *Angiostomum* (Schleip, '11a, '11b; Boveri, '11), likewise in parthenogenetic and sexual generations of the aphids and phylloxerans (Morgan '08, '09; von Baehr '09), and in the hybridization of the (♀) guinea fowl with the (♂) common fowl (Guyer '12). The facts brought out by these researches also lend support to the hypothesis that, in these cases at least, the male normally produces two sorts of spermatozoa and that in those cases where only one sex results from sexual reproduction, one of the two classes of spermatozoa either fails to develop or is non-functional.

A more detailed study of the composition and behavior of the heterochromosomes in spermatogenesis shows: 1. that the x-chromosome is often complex; 2. that the x-chromosome is often found associated with metabolic products in the growth of the spermatocytes; 3. that when a pair of idiochromosomes is present, the x- and y-chromosomes show their affinity for each other in varying degrees in the different species examined; 4. that the relative size of the paired heterochromosomes varies greatly, and that this pair may be connected with the autosomes; 5. that the unpaired x-chromosome, or heterotropic chromosome, either may be coupled with a pair of autosomes in the maturation divisions and only occasionally separate from them, or may be partially or entirely independent of the autosomes, lying outside the spindle in division and tending to form a nucleus of its own. These five propositions will now be discussed.

1. Cases where the x-chromosome is represented by several chromatic bodies which are still intimately associated with one another have been reported from diverse groups of animals. In *Syromastes* (Wilson '09a, '09b) the x-element is in the form of two chromosomes in the male, and these two x-elements are represented in the female by four chromosomes. Guyer ('10) has reported a similar condition in the spermatogenesis of man. This case, however, would seem to need confirmation, for both Gutherz ('12) and Montgomery ('12) have, in the main, been unable to support Guyer's contention. An interesting possible transition stage from a single to a double x-chromosome may be that of *Cicindela* (Stevens '09a), where the x-chromosome is markedly bilobed. Payne ('09) has shown that in *Fitchia* the x-element is represented by three chromosomes, in *Prionidus* by four and in *Gelastocoris* by five; in all these cases the x-complex has as its synaptic mate a single y-chromosome. In *Ascaris lumbricoides* (Edwards '10) the x-element is composed of five chromosomes with no synaptic mate, the diploid numbers of chromosomes being 43 in the male and 48 in the female. One of the most interesting cases is that of *Thyanta custator* (Wilson '11a). Whereas the typical form has an unequal pair of idiochromosomes, the x-chromosomes being considerably larger than the y-chromosome, another race of the same species was found in which the x-element, though no larger than that of the usual type, was represented by two chromosomes. Wilson, following Stevens ('06), suggests that the x-chromosome is complex and that the paired idiochromosomes may be formulated as $xy+y$, wherein xy is the larger idiochromosome, and y the smaller idiochromosome. This interpretation would then lend an explanation to the origin of the un-

paired x-chromosome by the subtraction of $y+y$ from $xy+y$. The question immediately arises, what has become of $y+y$ in forms which have an unpaired x-chromosome (*E. curvata* for instance)? Does $y+y$ form a separate pair of chromosomes, either different from or similar to the autosomes in the growth period (for the y-chromosome stains deeply in forms having paired idiochromosomes), or is the substance of $y+y$ taken up by the autosomes? I shall return to a consideration of this question in a discussion of the probable origin of the unpaired x-chromosome of *E. curvata*.

2. The sex chromosomes are usually characterized by their form and stainability in the growth of the spermatocyte; they remain condensed and seldom lose their affinity for basic stains to the same degree as do the autosomes. Cases have been described in which the allosomes are vacuolated or are intimately associated with plasmasomes during the growth period of the spermatocytes (Wassilieff '07, Dederer '07, Buchner '09, Payne '09). Both Buchner and Wassilieff attribute to the x-chromosome the production of cytoplasmic granules or mitochondria. The x-chromosome is often surrounded by a clear area of cytoplasm (as in *E. curvata*), which may indicate some special metabolic activity of this body affecting the autochromatin. Brunelli ('10) has suggested that the x-chromosome may be associated with the transformation of oxychromatin into basichromatin in the formation of the tetrads at the end of the growth period. All these cases would seem to indicate that there is a special "x-chromatin", physiologically different from the "autochromatin". Goldschmidt ('10) and Buchner ('09, '10) have considered the x-chromosome merely as a special configuration of tropho-chromatin, comparable to Giardina's ring and to basic nucleoli of oöcytes, but not a true chromosome. The last conclusion is hardly justifiable, for in oögonia, spermatogonia and soma cells of animals possessing definite sex-chromosomes it is known that the behavior of these bodies in mitosis is similar to that of the autosomes. That they may be different physiologically but still be chromosomes is not unlikely. However, we cannot have a clear idea of their function until a careful comparative study of their behavior in the oöcytes and spermatocytes of the same species has been made.

3. The behavior of the components in the case of the paired idiochromosomes seems to differ in the various orders of insects. In the spermatogenesis of Orthoptera (Randolph '08, Stevens '10) they unite just before the first maturation spindle is formed. This has also been shown to be the case in many Coleoptera and Diptera (Stevens '06, '08, '09a). In the Hemiptera (heteroptera) the idiochromosomes fail to unite

until the second maturation division, at which time they come together end to end and subsequently separate reductionally (Wilson '05a, '05b, '06; Montgomery '06, '11). The allosomes certainly exhibit less affinity for each other than do the autosomes. In *E. binotata* it was shown that the *xy* pair was formed (after the pairing of the autosomes) in the zygonema by an end to end fusion of two threads followed later by their approximation side by side. In the Orthoptera and Coleoptera this union occurs still later, and in the Hemiptera (heteroptera) it is delayed until the second spermatocyte division. Can we in any way account for the variation in the degree of attraction or repulsion which these chromosomes exhibit toward each other? If we assume that the idiochromosome pair is represented by the formula $xy+y$, and that y and y tend to attract each other (perhaps representing the basis of allelomorphic characters), while the "*x*-chromotin" is indifferent to "*y*-chromatin" or "autochromatin", then the attraction between the large idiochromosome and the small idiochromosome would depend upon the amount of "*y*-chromatin" still remaining in the large idiochromosome (assuming that $y+y$ tend to separate from $xy+y$).

4. The deportment of the *y*-chromosome and "*y*-chromatin" is of utmost importance in a consideration of the probable origin of the unpaired *x*-chromosome from a pair of idiochromosomes. Formulating the paired heterochromosomes as $xy+y$, it is logical to suppose that in its unmodified form *xy* (the larger idiochromosome) should contain more chromatin than *y* (the smaller idiochromosome). This seems to be true of the majority of cases, for only a very few examples of equal heterochromosomes have been described: *Oncopeltus* (Montgomery '06, Wilson '11a), *Anisolabis* (Randolph '08), *Philosamia* (Dederer '07), and other Lepidoptera (Cook '10). In *E. binotata* it was shown that, although it was impossible in metaphase to distinguish in size between the two components of the allosome pair, yet the behavior of its two components in the growth period showed that one contained more stainable substance than the other. This might indicate that it may not always be the amount of chromatin which determines the size of a chromosome, but that size may also depend upon the linin which forms the groundwork for the chromatin.

In *Acholla multispinosa* (Payne '09) the *y*-chromosome is larger than the *x*-complex, which is made up of five chromosomes. It is possible that here we have a case in which there is a breaking up of the *x*-chromosome and a loss of some of its "*y*-chromatin", which tends to link itself to the original *y*-chromosome.

In *Anopholes* (Stevens '11) both members of the heterochromosome pair are united to the ends of a long pair of autosomes. Examination of the diploid groups showed that these heterochromosomes are of unequal size in the male and equal in the female. In the first spermatocyte division, they may be seen as two knobs at the opposite extremities of a long autosome geminus formed from the two chromosomes to which they were connected in the spermatogonia. This would indicate, under the assumption that the pair of idiochromosomes equals $xy+y$, that "y-chromatin" and "auto-chromatin" are not antagonistic.

In *Nezara hilaris* there is a pair of idiochromosomes nearly equal in size, but in *Nezara viridis* the y-chromosome is very small, the x-chromosome about the same size as that of *N. hilaris* (Wilson '10a, '11a). Should it be proved that the "y-chromatin" is taken up by the autosomes, *N. hilaris* might represent an intermediate form, which one might expect to find between two forms such as *E. binotata* (with x equal to y in size) and *E. curvata* (with only x).

5. The unpaired sex-chromosome or heterotropic chromosome may be associated more or less intimately with one or more autosomes. In the Orthoptera McClung ('05) and Sinéty ('01) have shown that the x-chromosome may be connected to one end of an autosome geminus in the maturation divisions. In *Ascaris megalocephala* (Boring '09, Boveri '09, Edwards '10) the x-element is recognizable only occasionally, being usually fused to an autosome. This may also be the explanation of the asymmetrical tetrad of *Ascaris felis* (Edwards '11). In other cases there are heavy fibers connecting the x-element to one or more autosomes in the maturation divisions (Davis '08, Fig. 91, Plate VI; Demoll '12, Fig. 43, Taf. VI). This was also true of *E. curvata* and probably accounted for the lagging and lengthening of the x-element. Finally, the x-chromosome may be entirely independent of the autosomes. It may lie in a separate vesicle during the growth period of the spermatocyte, take a position outside the spindle in the maturation divisions, and tend to form a nucleus of its own (Sutton '02, Baumgartner '04, Davis '08, Brunelli '09).

Following out the preceding considerations, I have attempted to suggest in a diagrammatic way (Plate XXII) how the unpaired x-chromosome of *E. curvata* may have arisen from the allosome pair of *E. binotata*. In these diagrams are included the macrochromosome pair, one of the eight smaller autosome pairs, the allosomes and the chromatic nucleoli. As far as possible, within the limits of diagrammatic clearness, the typical form of the chromosomes in the given stages is adhered to.

The symbols, black for "autochromatin", white (i. e. outlines only) for "x-chromatin", small circles for "y-chromatin" and dots for linin, are of course only hypothetical. Figure 200 (Plate XXII) represents the bouquet stage of *E. binotata*. The autochromosomes are paired side by side, the allosomes (x and y) have united end to end. The x-component contains "x-chromatin" and "y-chromatin", the y-component contains only "y-chromatin", but equal in amount to that of the x-component. Figure 201 shows the lateral approximation of the allosomes, due possibly to the attraction of "y-chromatin" for y-chromatin. The autosomes have given up their polar arrangement. In the strepsistene stage (Fig. 202) the allosomes separate, the x-component shortens and the y-component appears less granular. The paired autosomes separate along their lengths and twist about each other. In Figure 203 the allosomes have contracted still farther, the x-component more so than the y-component, and they show a thick connecting strand between them. The autosomes have contracted and split longitudinally. Figure 204 represents a stage slightly older than Figure 203 and shows a complete condensation of the allosomes and the straightening out of the tetrads. Following this is the metaphase of the first spermatocyte division (Fig. 205). This is a reduction division for both the autosomes and the allosomes. The x-component passes to one of the resulting cells (a, Fig. 206), the y-component to the other cell (b, Fig. 206). The divisions of the second spermatocytes are represented in Figures 207 and 208. The division of cell a gives rise to two spermatids (Fig. 208 a^1 and a^2) of like composition. Each contains half the substance of the x-component of the allosome pair and is "female determining", having both "x-chromatin" and "y-chromatin". Cell b gives rise to two "male determining" spermatids (Fig. 210 b^1 and b^2), which contain no "x-chromatin", but "y-chromatin" equal to that of a^1 and a^2 (Fig. 208).

Turning now to *E. curvata* (Figs. 211—222), the bouquet stage is represented in Figure 211. It shows two pairs of autosomes (one the macrochromosome pair), the x-element (composed of "x-chromatin" and a small amount of "y-chromatin") situated at the positive pole of the nucleus, and the chromatic nucleolus, which is in intimate relation with the x-element. It is assumed that this nucleolus, which stains like an allosome, is composed of "y-chromatin", part of which originally belonged to the x-element, and that when the autosomes passed from the fine network stage (following the last spermatogonial division) into the early leptonema and began to pair, this "y-chromatin", still attracted by the "y-chromatin" of the x-element, gathered at the positive pole.

With the loss of the polar arrangement of the autosomes (Fig. 212), the chromatic nucleolus divides and comes into close contact with the autosomes, but still retains its connection with the *x*-element. As the strepsistene stage advances (Fig. 213), the chromatic nucleoli become smaller (giving up their substance to the autosomes?). When the tetrad form is reached (Figs. 214, 215), only linin fibers, upon which the "*y*-chromatin" was scattered, remain connecting the *x*-chromosome with the autosomes. Since the *x*-chromosome has retained some of its "*y*-chromatin", it is attracted by the "*y*-chromatin" now contained in the autosomes; but should the *x*-element lose all its "*y*-chromatin", it would be indifferent to the autosomes and behave entirely independently of them, as in *Oedipoda* (Buchner '09), *Brachystola* (Sutton '02), and *Gryllus* (Baumgartner '04, Brunelli '09). Figure 215 represents the metaphase of the first spermatocyte division. The *x*-element is spherical, its future plane of cleavage is parallel to the axis of the spindle. Linin fibers connect it to the autosomes. As the autosomes separate (reductionally) the linin fibers pull the *x*-chromosome toward both poles and it lengthens (Fig. 217). Sometimes, as seen in Figures 162, 163 (Plate XXI), it breaks into two parts at this stage, but normally it passes undivided in late anaphase to one of the two daughter cells (a, Fig. 218). The second division (Figs. 219, 221) is equational and all the chromosomes (lying with their plane of division parallel to the equator of the spindle) separate simultaneously. The spermatids resulting from the division of the second spermatocyte a (Fig. 219) are represented in Figure 220, (a^1 and a^2). Each contains half the *x*-chromosome and is "female determining". Those coming from cell b (Fig. 221), represented by b^1 und b^2 (Fig. 222), contain no *x*-chromosome and are "male determining". Thus, in the distribution of the "*x*-chromatin" the same end result is achieved in both *E. binotata* and *E. curvata* (compare Figs. 208, 210, with Figs. 220, 222, respectively, Plate XXII), but the distribution of the "*y*-chromatin" may be unequal in *E. curvata*, depending upon the breaking up of the chromatic nucleoli (Fig. 213). This, following the suggestion of Wilson ('11a, '11b) and Morgan ('11), may offer a possible basis for the association with the *x*-element of characters borne by the "*y*-chromatin" and situated in the *x*-element or autosomes.

E. binotata probably represents the allosomes in one of the least modified forms, phylogenetically speaking, and suggests that it may still be possible to discover some difference between the components of the allosome pairs in the growth period of the spermatocytes of such forms as the Lepidoptera. Transitional forms between such hetero-

chromososomes as are found in *E. binotata* and *E. curvata* may also be found in the homopterous Hemiptera.

XI. Summary.

1. In *Enchenopa binotata* and *E. curvata* the large apical cell at the distal end of each tubule of the testis functions in the nutrition of the spermatogonia. Its long cytoplasmic processes are larger and more distinct when degenerating cysts are present.

2. The spermatogonial number of chromosomes in *E. binotata* is twenty; two macrochromosomes, and eighteen smaller chromosomes.

3. The spermatogonial number of chromosomes in *E. curvata* is nineteen; two macrochromosomes and seventeen smaller chromosomes.

4. The oögonial number of chromosomes in both species is twenty; two macrochromosomes and eighteen smaller chromosomes.

5. The double threads of the bouquet stage are formed by the side-by-side union of the leptotene threads in pairs (parasyndesis) in both species. Syndesis takes place before a regular polar arrangement of the loops is assumed. In both *E. binotata* and *E. curvata* there are nine double loops equivalent to eighteen autosomes of the spermatogonia. One loop is much longer than any of the others and doubtless corresponds to the macrochromosomes.

6. In *E. binotata* a pair of deeply staining threads come together end to end in the early bouquet stage and afterwards become approxinated side by side. One is a solid rod, the other is granular and contains less chromatin. This pair of threads forms a geminus (*xy*) in the early prophase of the first spermatocyte before the autosomes have fully contracted. It is characterized by its deep stainability, by a single thick strand connecting the two components, and by the absence of a longitudinal line of division. This pair of allosomes (*xy*) bears characteristics of both heterochromosomes and autosomes.

7. In *E. curvata* there is a single *x*-chromosome, deeply stainable throughout the growth of the spermatocytes, and in connection with it are several chromatic nucleoli. These nucleoli often retain their connection with the *x*-chromosome and also become attached to the autosomes. They gradually disappear in the late strepsistene stage leaving the deeply stained *x*-chromosome connected to the autosomes by distinct linin fibers.

8. In the metaphase of the first spermatocyte of *E. binotata* there are ten bivalent chromosomes: viz. one macrochromosome geminus, eight

smaller autosome gemini and a pair of allosomes (*xy*). In *E. curvata* there are nine bivalent chromosomes and one univalent chromosome (*x*); here, also, there are present a macrochromosome geminus and eight smaller autosome gemini. The univalent *x*-chromosome retains its connections with the autosomes.

9. The first spermatocyte division is transverse and reductional. In *E. binotata* all the chromosomes separate simultaneoulsy; in *E. curvata* the *x*-chromosome lags, and is lengthened in the direction of the spindle. This lagging is probably due to the thick fibers connecting the *x*-chromosome to the two groups of separating autosomes. The *x*-chromosome usually passes undivided to one of the two second spermatocytes, but exceptionally it is pulled in two.

10. The second spermatocyte division is longitudinal and equational. In both species all the chromosomes separate simultaneously. All the spermatids of *E. binotata* contain ten chromosomes, one chromosome (*x* or *y*) retains its stainability longer than the other nine. In *E. curvata* half the spermatids contain ten chromosomes, and the other half nine. In those with ten chromosomes one (*x*) chromosome retains its deep stainability.

Cambridge, Mass., April 15, 1912.

Bibliography.

Agar, W. E. 1911. The Spermatogenesis of Lepidosiren paradoxa. Quart. Journ. Micr. Sci., N. S., No. 225. Vol. LVII. Part 1. p. 1—44. pl. 1—V. 1 textfig.

Baehr, W. B. von. 1909. Die Oogenese bei einigen viviparen Aphididen und die Spermatogenese von Aphis saliceti, mit besonderer Berücksichtigung der Chromatinverhältnisse. Arch. f. Zellf. Bd. III. S. 269—333. Taf. XII—XV.

Baumgartner, W. J. 1904. Some new Evidences for the Individuality of the Chromosomes. Biol. Bull. Vol. VIII. No. 1. p. 1—28. 3 pl.

Blackman, M. W. 1910. Spermatogenesis of the Myriopods. VI. An Analysis of the Chromosome Group of Scolopendra heros. Biol. Bull. Vol. XIX. No. 2. p. 138—159. 2 pl. 4 textfigs.

Bonnevie, Kristine. 1911. Chromosomenstudien. III. Chromatinreifung in Allium cepa (♂). Arch. f. Zellf. Bd. VI. Hft. 2. S. 190—253. Taf. X—XIII.

Boring, Alice M. 1907. A Study of the Spermatogenesis of Twenty-Two Species of the Membracidae, Jassidae, Cercopidae and Fulgoridae, with Especial Reference to the Behavior of the Odd Chromosome. Journ. Exp. Zoöl. Vol. IV. No. 4. p. 469—513. 9 pl.

—— 1909. A Small Chromosome in Ascaris megalocephala. Arch. f. Zellf. Bd. IV. Hft. 1. S. 120—131. Taf. X.

Boveri, T. 1904. Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. G. Fischer, Jena. 1904. 124 Seiten. 75 Textfiguren.

Boveri, T. 1909. Über Geschlechtschromosomen bei Nematoden. Arch. f. Zellf. Bd. IV. Hft. 1. S. 132—141. 2 Textfiguren.

—— 1911. Über das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Hermaphroditismus. Beobachtungen an Rhabditis nigrovenosa. Verhandl. phys.-med. Gesell. Würzburg, N. F. Bd. XLI. Nr. 5. S. 83—97. 19 Figuren.

Browne, Ethel. 1910. The Relation between Chromosome-Number and Species in Notonecta. Biol. Bull. Vol. XX. No. 1. p. 19—34. 5 pl.

Brunelli, G. 1909. La spermatogenesi del Gryllus desertus Pall. (Divisioni spermatogoniali e maturative). Mem. de. Accad. Lincei, Cl. Sci. Fis., Mat. e Nat. Ser. 5. Vol. VII. Fasc. 11. p. 624—653. 2 Tav.

—— 1910. Sur le monosome (Chromosome accessoire) de Gryllus desertus. Arch. Ital. de Biol. Tom. LIII. Fasc. 2. p. 317, 318.

Buchner, P. 1909. Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellf. Bd. III. Hft. 3. S. 335—430. Taf. XVI—XXI. 5 Textfiguren.

—— 1910. Zur Bedeutung der Heterochromosomen. Arch. f. Zellf. Bd. V. Hft. 3. S. 449—464. Taf. XXIV.

Cook, Margaret H. 1910. Spermatogenesis in Lepidoptera. Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia. Vol. LXII. pt. 2. p. 294—327. pl. XXII—XXVII.

Davis, H. S. 1908. Spermatogenesis in Acrididae and Locustidae. Bull. Mus. Comp. Zoöl. Harvard Coll. Vol. LIII. No. 2. p. 57—158. 9 pl. 24 textfigs.

Dederer, Pauline H. 1907. Spermatogenesis in Philosamia cynthia. Biol. Bull. Vol. XIII. No. 2. p. 94—106. 42 textfigs.

Demoll, R. 1912. Die Spermatogenese von Helix pomatia L. Ein Beitrag zur Kenntnis der Heterochromosomen. Zool. Jahrb. Suppl. 15. Festschrift Spengel. Bd. II. S. 107—140. Taf. V—VI. 3 Textfiguren.

Edwards, C. L. 1910. The Idiochromosomes in Ascaris megalocephala and Ascaris lumbricoides. Arch. f. Zellf. Bd. V. Hft. 3. S. 422—429. Taf. XXI—XXII.

—— 1911. The Sex Chromosomes of Ascaris felis. Arch. f. Zellf. Bd. VII. Hft. 3. S. 309—313. Taf. XXVIII.

Flemming, W. 1887. Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXIX. Hft. 3. S. 389—463. Taf. XXIII—XXVI.

Foot, Katherine, and E. C. Strobell. 1907. A Study of Chromosomes in the Spermatogenesis of Anasa tristis. Amer. Journ. Anat. Vol. VII. No. 2. p. 279—316. 3 pl.

Gérard, P. 1909. Recherches sur la Spermatogénèse chez Stenobothrus biguttulus (Linn.). Arch. de Biol. Tom. XXIV. Fasc. 4. p. 543—624. pl. XIX—XXI. 11 textfigs.

Goldschmidt, R. 1908a. Die Chromatinreifung der Geschlechtszellen des Zoogonus mirus Lss. und der Primärtypus der Reduktion. Arch. f. Zellf. Bd. II. Hft. 2. S. 348—370. Taf. XXIV—XXV. 6 Textfiguren.

—— 1908b. Ist eine parallele Chromosomenkonjugation bewiesen? Arch. f. Zellf. Bd. I. Hft. 4. S. 620—622.

—— 1910. Kleine Beobachtungen und Ideen zur Zellenlehre. I. 1. Accessorisches Chromosom und Geschlechtsbestimmung. Arch. f. Zellf. Bd. VI. Hft. 1. S. 19—39.

Grégoire, V. 1905. Les résultats acquis sur les Cinèses de maturation dans les deux règnes (Premier Mémoire). La Cellule. Tom. XXII. Fasc. 2. p. 219—376. 147 textfigs.

Grégoire, V. 1909. La réduction dans le Zoogonus mirus Lss. et le »Primärtypus«. La Cellule. Tom. XXV. Fasc. 2. p. 243—287. 2 pl.

—— 1910. Les Cinèses de maturation dans les deux règnes (Second Mémoire). La Cellule. Tom. XXVI. Fasc. 2. p. 221—422. 145 textfigs.

Gross, J. 1904a. Ein Beitrag zur Spermatogenese der Hemipteren. Verh. deutsch. zool. Gesell., 14. Jahresvers. S. 180—190. 1 Textfigur.

—— 1904b. Die Spermatogenese von Syromastes marginatus L. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. Bd. XX. Hft. 3. S. 439—489. Taf. XXXI—XXXII. 3 Textfig.

—— 1906. Die Spermatogenese von Pyrrhocoris apterus L. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. Bd. XXIII. Hft. 2. S. 269—336. Taf. XIX—XX. 4 Textfiguren.

Gulick, A. 1911. Über die Geschlechtschromosomen bei einigen Nematoden nebst Bemerkungen über die Bedeutung dieser Chromosomen. Arch. f. Zellf. Bd. VI. Hft. 3. S. 339—382. Taf. XVIII—XX. 5 Textfiguren.

Gutherz, S. 1912. Über ein bemerkenswertes Strukturelement (Heterochromosom?) in der Spermiogenese des Menschen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXIX. Abt. 2. S. 79—95. Taf. VI. 2 Textfiguren.

Guyer, M. F. 1910. Accessory Chromosomes in Man. Biol. Bull. Vol. XIX. No. 4. p. 219—234. 1 pl.

—— 1912. Modifications in the Testes of Hybrids from the Guinea and the Common Fowl. Journ. Morph. Vol. XXIII. No. 1. p. 45—59. 2 pl.

Haecker, V. 1910. Ergebnisse und Ausblicke in der Keimzellenforschung. Zeitschr. f. indukt. Abstamm.- u. Vererb. Bd. III. Hft. 3. S. 181—200. 5 Textfig.

—— 1911. Allgemeine Vererbungslehre. Braunschweig 1911. Bd. X. 392 Seiten. 4 Tafeln. 135 Textfiguren.

Henking, H. 1891. Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. II. Über Spermatogenese und deren Beziehung zur Eientwicklung bei Pyrrhocoris apterus L. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LI. Hft. 4. S. 685—736. Taf. XXXV—XXXVII. 1 Textfigur.

Janssen, F. A. 1905. Spermatogénèse dans les Batraciens. III. Evolution des Auxocytes mâles du Batracoseps attenuatus. La Cellule. Tom. XXII. Fasc. 2. p. 377—426. 7 pl.

—— 1909. Spermatogénèse dans les Batraciens. V. La Théorie de la Chiasmatypie. La Cellule. Tom. XXV. Fasc. 2. p. 387—411. 2 pl. 27 figs.

Janssens, F. A., et J. Willems. 1909. Spermatogénèse dans les Batraciens. IV. La Spermatogénèse dans l'Alytes obstetricans. La Cellule. Tom. XXV. Fasc. 1. p. 149—178. 2 pl.

Lefevre, G., and Caroline McGill. 1908. The Chromosomes of Anasa tristis and Anax junius. Amer. Journ. Anat. Vol. VII. No. 4. p. 469—487. 5 figs.

McClung, C. E. 1905. The Chromosome Complex of Orthopteran Spermatocytes. Biol. Bull. Vol. IX. No. 5. p. 304—340. 21 textfigs.

Meves, F. 1908. Es gibt keine parallele Konjugation der Chromosomen! Arch. f. Zellf. Bd. I. Hft. 4. S. 612—619. 1 Textfig.

Meves, F. und J. Duesberg. 1908. Die Spermatocytenteilungen bei der Hornisse (Vespa crabro L.). Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXI. Hft. 4. S. 571—587. Taf. XLII, XLIII.

Montgomery, jr., T. H. 1900. The Spermatogenesis of Peripatus (Peripatopsis balfouri) up to the Formation of the Spermatid. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. Bd. XIV. Hft. 2. S. 277—368. Taf. XIX—XXV.

Montgomery, jr. T. H. 1901. A Study of the Chromosomes of the Germ Cells of Metazoa. Trans. Amer. Phil. Soc., Philadelphia. N. S. Vol. XX. pt. 2. p. 154—236. pl. IV—VIII.

—— 1903. The Heterotypic Maturation Mitosis in Amphibia and its General Significance. Biol. Bull. Vol. IV. No. 5. p. 259—269. 8 textfigs.

—— 1904. Some Observations and Considerations upon the Maturation Phenomena of the Germ Cells. Biol. Bull. Vol. VI. No. 3. p. 137—158. 3 pl.

—— 1906. Chromosomes in the Spermatogenesis of the Hemiptera Heteroptera. Trans. Amer. Phil. Soc., Philadelphia. Vol. XXI. Pt. 3. p. 97—173. pl. IX—XIII.

—— 1911. The Spermatogenesis of an Hemipteron, Euschistus. Journ. Morph. Vol. XXII. No. 3. p. 731—817. 5 pl.

—— 1912. Human Spermatogenesis. Science. N. S. Vol. XXXV. No. 899. p. 472.

Morgan, T. H. 1908. The Production of Two Kinds of Spermatozoa in Phylloxerans — Functional "Female Producing" and Rudimentary Spermatozoa. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. Vol. V. No. 3. p. 56—57.

—— 1909. A Biological and Cytological Study of Sex Determination in Phylloxerans and Aphids. Journ. Exp. Zoöl. Vol. VII. No. 2. p. 239—352. 1 pl. 23 textfigs.

—— 1911. An Attempt to Analyze the Constitution of the Chromosomes on the Basis of Sex-Limited Inheritance in Drosophila. Journ. Exp. Zoöl. Vol. XI. No. 4. p. 365—411. 1 pl.

Morrill, C. V. 1910. The Chromosomes in the Oögenesis, Fertilization and Cleavage of Coreid Hemiptera. Biol. Bull. Vol. XIX. No. 2. p. 79—126. 2 pl. 12 textfigs.

Otte, H. 1906. Samenreifung und Samenbildung von Locusta viridissima. I. Die Samenreifung. Zool. Anz. Bd. XXX. S. 529—535. 14 Textfiguren.

Paulmier, F. C. 1899. The Spermatogenesis of Anasa tristis. Journ. Morph. Vol. XV. Suppl. p. 223—272. pl. XIII, XIV. 6 textfigs.

Payne, F. 1909. Some New Types of Chromosome Distributions and their Relation to Sex. Biol. Bull. Vol. XVI. No. 3 and 4. p. 119—166. 1 pl. 11 textfigs.

Randolph, Harriet. 1908. On the Spermatogenesis of the Earwig Anisolabis maritima. Biol. Bull. Vol. XV. No. 2. p. 111—118. pl. I, II.

Schäfer, F. 1907. Spermatogenese von Dytiscus. Ein Beitrag zur Frage der Chromatinreduktion. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. Bd. XXIII. Hft. 4. S. 535—586. Taf. XXXIV. 7 Textfiguren.

Schleip, W. 1911a. Über die Chromatinverhältnisse bei Angiostomum (Rhabdonema) nigrovenosum. Ber. Naturf. Gesell. Freiburg i. Br. Bd. XIX. Hft. 1. S. 1—8.

—— 1911b. Das Verhalten des Chromatins bei Angiostomum (Rhabdonema) nigrovenosum. Ein Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Chromatin und Geschlechtsbestimmung. Arch. f. Zellf. Bd. VII. Hft. 1. S. 87—138. Taf. IV—VIII.

Schreiner, A. und K. E. 1906a. Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. I. Die Reifung der männlichen Geschlechtszellen von Tomopteris onisciformis Escholtz. Arch. de Biol. Tom. XXII. Fasc. 1. p. 1—69. Taf. I—III. 1 Textfigur.

—— 1906b. Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. II. Die Reifung der männlichen Geschlechtszellen von Salamandra maculosa (Laur.), Spinax niger (Bonap.) und Myxine glutinosa (L.). Arch. de Biol. Tom. XXII. Fasc. 3—4. p. 419—492. Taf. XXIII—XXVI.

Schreiner, A. und K. E. 1906c. Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. III. Die Reifung der Geschlechtszellen von Ophryotrocha puerilis Clprd-Mecz. Anat. Anz. Bd. XXIX. No. 18. S. 465—479. 17 Textfig.

—— 1907. Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. IV. Die Reifung der Geschlechtszellen von Enteroxenos östergreni Bonn. Skrift. Videnskabs-Selskab. Christiania, Math.-Nat. Klasse, 1907. Nr. 2. 24 Seiten. 6 Tafeln.

—— 1908a. Gibt es eine parallele Konjugation der Chromosomen? Erwiderung an die Herren Fick, Goldschmidt und Meves. Skrift. Videnskabs-Selskab. Christiania, Math.-Nat. Klasse, 1908. Nr. 4. 31 Seiten. 3 Tafeln.

—— 1908b. Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. V. Die Reifung der Geschlechtszellen von Zoogonus mirus Lss. Skrift. Videnskabs-Selskab. Christiania, Math.-Nat. Klasse, 1908. Nr. 8. 24 Seiten. 4 Tafeln.

Sinéty, R. de. 1901. Recherches sur la Biologie et l'Anatomie des Plasmes. La Cellule. Tom. XIX. p. 117—278. 5 pl.

Stevens, Nettie M. 1905a. A Study of the Germ Cells of Aphis rosae and Aphis oenotherae. Journ. Exp. Zoöl. Vol. II. No. 3. p. 313—333. 4 pl.

—— 1905b. Studies in Spermatogenesis with Especial Reference to the "Accessory Chromosome". Carnegie Instn. Washington. Publ. No. 36. p. 1—32. pl. I—VII.

—— 1906. Studies in Spermatogenesis. Part 2. Carnegie Instn. Washington. Publ. No. 36. Part 2. p. 33—74. pl. VIII—XV.

—— 1908. A Study of the Germ Cells of Certain Diptera, with Reference to the Heterochromosomes and the Phenomena of Synapsis. Journ. Exp. Zoöl. Vol. V. No. 3. p. 359—374. 4 pl.

—— 1909a. Further Studies on the Chromosomes of the Coleoptera. Journ. Exp. Zoöl. Vol. VI. No. 1. p. 101—113. 4 pl.

—— 1909b. An Unpaired Heterochromosome in the Aphids. Journ. Exp. Zoöl. Vol. VI. No. 1. p. 115—123. 2 pl.

—— 1910. An Unequal Pair of Heterochromosomes in Forficula. Journ. Exp. Zoöl. Vol. VIII. No. 2. p. 227—240. 48 fig. on 3 pl.

—— 1911. Further Studies on Heterochromosomes in Mosquitoes. Biol. Bull. Vol. XX. No. 2. p. 109—120. 38 textfigs.

—— 1912a. Supernumerary Chromosomes, aud Synapsis in Ceuthophilus (sp.?). Biol. Bull. Vol. XXII. No. 4. p. 219—230. 35 textfigs.

—— 1912b. Further Observations on Supernumerary Chromosomes, and Sex Ratios in Diabrotica soror. Biol. Bull. Vol. XXII. No. 4. p. 231—238. 13 textfigs.

Sutton, W. S. 1902. On the Morphology of the Chromosome Group in Brachystola magna. Biol. Bull. Vol. IV. No. 1. p. 24—39. 11 textfigs.

—— 1903. The Chromosomes in Heredity. Biol. Bull. Vol. IV. No. 5. p. 231—251.

Wassermann, F. 1912. Über die Eireifung bei Zoogonus mirus Lss. Sitzungsber. Gesell. f. Morph. u. Physiol. München. Bd. XXVII. S. 128—151. 22 Textfig.

Wassilieff, A. 1907. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX. Hft. 1. S. 1—42. Taf. I—III. 1 Textfigur.

Wilcox, E. V. 1895. Spermatogenesis of Caloptenus femur-rubrum and Cicada tibicen. Bull. Mus. Comp. Zoöl. Harvard Coll. Vol. XXVII. No. 1. p. 1—32. 5 pl. 10 textfigs.

Wilke, G. 1907. Die Spermatogenese von Hydrometra lacustris L. Jena. Zeitschr. Naturwiss. Bd. XLII (N. F. Bd. LIII). Hft. 3. S. 669—720. Taf. XLI—XLIII. 19 Textfiguren.

Wilson, E. B. 1905a. Studies on Chromosomes. I. The Behavior of the Idiochromosomes in Hemiptera. Journ. Exp. Zoöl. Vol. II. Nr. 3. p. 371—405. 7 textfigs.

—— 1905b. Studies on Chromosomes. II. The Paired Microchromosomes, Idiochromosomes and Heterotropic Chromosomes in Hemiptera. Journ. Exp. Zoöl. Vol. II. No. 4. p. 507—545. 4 textfigs.

—— 1906. Studies on Chromosomes. III. The Sexual Differences of the Chromosome-Groups in Hemiptera, with some Considerations on the Determination and Inheritance of Sex. Journ. Exp. Zoöl. Vol. III. No. 1. p. 1—40. 6 textfigs.

—— 1909a. Studies on Chromosomes. IV. The "Accessory" Chromosome in Syromastes and Pyrrochoris with a Comparative Review of the Types of Sexual Differences of the Chromosome Groups. Journ. Exp. Zoöl. Vol. VI. No. 1. p. 69—99. 2 pl. 2 textfigs.

—— 1909b. The Female Chromosome Groups in Syromastes and Pyrrochoris. Biol. Bull. Vol. XVI. No. 4. p. 199—204. 2 textfigs.

—— 1910a. Note on the Chromosomes of Nezara. A Correction and Addition. Science, N. S. Vol. XXXI. No. 803. p. 788—789.

—— 1910b. Studies on Chromosomes. VI. A New Type of Chromosome Combination in Metapodius. Journ. Exp. Zoöl. Vol. IX. No. 1. p. 53—78. 5 textfigs.

—— 1911a. Studies on Chromosomes. VII. A Review of the Chromosomes of Nezara; with Some More General Considerations. Journ. Morph. Vol. XXII. No. 1. p. 71—110. 1 pl. 9 textfigs.

—— 1911b. The Sex Chromosomes. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXVII. S. 249—271. 5 textfigs.

Winiwarter, H. von. 1900. Recherches sur l'Ovogenèse et l'Organogenèse de l'ovaire des Mammifères (Lapin et Homme). Arch. de Biol. Tom. XVII. Fasc. 1. p. 33—199. pl. III—VIII.

Winiwarter, H. von, et G. Sainmont. 1909. Nouvelles recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des mammifères (Chat). Chapitre IV. Ovogenèse de la Zone Corticale Primitive. Arch. de Biol. Tom. XXIV. Fasc. 2 et 3. p. 165—276. pl. V—VII.

Explanation of Plates.

All drawings of Plates XIX—XXI were made with the aid of a camera lucida. In all cases the projection distance was 400 mm and the tube length 160 mm. The combination used in all the figures, with the exception of Figure 29, Plate XIX, was a Zeiss 2 mm apochromatic objective and a No. 18 compensating ocular, giving a magnification of 3300 diameters. The figures were subsequently reduced one third. Figures 7—13 (Plate XVIII) are photomicrographs of preparations, and were made with the Edinger apparatus of Leitz.

Abbreviations.

cam.trm. = terminal chamber;
cl.apx. = apical cell;
cys.deg. = degenerating cyst;
fil.trm. = terminal filament;
gl.muc. = mucilaginous gland;
M. = macrochromosome;
nll.chr. = chromatic nucleolus;
oal. = ovariole;
o'dt. = oviduct;
ov. = ovary;
sp'thc. = spermatheca;
tbl. = tubule;
te. = testis;
ut. = uterus;
va.df. = vas deferens;
vsl.sem. = vesicula seminalis;
x = x-chromosome or x-component of paired allosomes;
xy = allosome pair of *Enchenopa binotata*;
y = y-component of allosome pair, *Enchenopa binotata*.

Plate XVIII.

Fig. 1. *Enchenopa binotata*, characteristic form. Female above, male below. × 2,1.

Fig. 2. *Enchenopa curvata*, characteristic form. Female above, male below. × 2,1.

Fig. 3. Nymph of *E. binotata* previous to final moult. × 1.6.

Fig. 4. Nymph of *E. curvata* previous to final moult. × 1.6.

Fig. 5. *E. binotata*. Types to show variation of this species. Specimens from widely separated localities of the United States. Nine females above, six males below. × 1.6.

Fig. 6. *E. curvata*. Types to show variation of this species. Specimens from a single field of the same locality. Eleven females above, eight males below. × 1.6.

Fig. 7. Testis of *E. curvata*. × 25.

Fig. 8. Longitudinal section of distal half of a tubule (testis of *E. binotata*), the section passing through apical cell. Degenerating cyst is seen below the apical cell. × 240.

Fig. 9. Immature ovary of *E. binotata*. × 25.

Fig. 10. Longitudinal section of terminal chamber of ovariole (*E. binotata*) showing mitoses near terminal filament. × 485.

Figs. 11, 12. Successive sections through distal end of tubule from testis ot *E. curvata*, cut at an angle of about 30° with the axis of the tubule. Figure 11 shows part of the nucleus of the apical cell and a degenerating cyst on the right. Figure 12 shows part of the cytoplasm and processes of the apical cell with degenerating cysts on both right and left. × 320.

Fig. 13. Section through apical cell (testis of *E. binotata*) of a tubule showing no degenerating cysts. × 240.

Plate XIX.

Figs. 14—28. *Enchenopa binotata.*

Fig. 14. Spermatogonium of early generation, quiescent state.

Fig. 15. Spermatogonium of early generation, metaphase, polar view.

Fig. 16. Same stage, lateral view.

Fig. 17. Spermatogonium of last generation, quiescent state.

Fig. 18. Spermatogonium of last generation, polar view, metaphase.

Fig. 19. Same stage, lateral view.

Figs. 20—23. Spermatogonia, polar views, metaphase.

Fig. 24. Spermatogonium from smear preparation.

Figs. 25—28. Oögonia, metaphase, polar view.

Figs. 29—43. *Enchenopa curvata.*

Fig. 29. Section through small spheroidal cyst of spermatogonia. × 656.

Figs. 30—31. Two optical sections of single quiescent spermatogonium from section shown in Figure 29.

Figs. 32—36. Spermatogonia, metaphase, polar view.

Figs. 37—38. Oögonia, metaphase, polar view.

Figs. 39—43. Types of cells degenerating during transition from last spermatogonial generation to first spermatocytes.

Fig. 44. Degenerating cell from *E. binotata*.

Figs. 45—70. First (primary) spermatocytes of *Enchenopa binotata.*

Fig. 45. Fine network of stage following last spermatogonial division. The nucleoli plainly visible.

Fig. 46. Slightly more advanced stage than Fig. 45. One deeply staining thread distinguishable. Nucleoli no longer visible.

Fig. 47. Early leptotene stage. One deeply staining thread is present.

Fig. 48. Later leptotene stage. Deeply staining thread united at one end with a more granular thread.

Fig. 49. Typical nucleus of leptotene stage.

Figs. 50—52. The transition from the leptotene stage to the zygotene. Fig. 50 shows a tendency toward a polar arrangement of the threads.

Fig. 53. Beginning of the bouquet stage.

Fig. 54. Bouquet stage, *xy* pair united end to end.

Fig. 55. Bouquet stage, *xy* pair laterally approximated. Macrochromosome loop at the right.

Fig. 56. Ends of loops and *xy* pair in bouquet stage, viewed from positive pole.

Fig. 57. Loss of polar arrangement of the loops after the bouquet stage.

Figs. 58—60. Early stages in the formation of the strepsistene threads. The *xy* pair plainly visible.

Figs. 61—65. The strepsistene stage showing the early separation of *x* and *y*. The autosomes also separate laterally and twist around each other.

Fig. 66. Early prophase of first maturation division. The macrochromosome geminus (upper part of nucleus) has the form of a ring. *x* much more condensed than *y*.

Fig. 67. Later prophase from a smear preparation, showing all ten bivalents.

Figs. 68—69. Two consecutive sections of a single cell in the some stage as Figure 67; all the chromosomes contained in the two sections.

Fig. 70. Later prophase. *xy* fully condensed.

Plate XX.

Figs. 71—102. First spermatocytes of *Enchenopa curvata*.

Fig. 71. Network following last spermatogonial division. The deeply staining nucleolus is probably the *x*-chromosome.

Fig. 72. Beginning of the formation of leptotene threads.

Fig. 73. Leptotene threads fully formed.

Fig. 74. Beginning of zygotene stage.

Figs. 75—76. Two consecutive sections of a single cell, showing both leptotene and zygotene threads.

Figs. 77—78. Two sections of a cell showing transition from leptonema to zygonema.

Fig. 79. Early zygotene stage previous to polar arrangement of double threads.

Fig. 80. Bouquet stage. Lateral view showing *x*-chromosome at positive (lower) pole.

Fig. 81. Bouquet stage showing ends of the loops viewed from positive pole, *x*-chromosome indicated by a dotted outline.

Figs. 82—84. Optical sections of late bouquet stage showing all the loops, the *x*-chromosome, and the chromatic nucleolus.

Fig. 85. Segmentation of chromatic nucleolus, and loss of polar arrangement of the loops.

Fig. 86. Slightly more advanced than Figure 85.

Fig. 87. Beginning of strepsistene stage.

Figs. 88—93. Successive stages of the strepsinema, showing the attachment of the chromatic nucleoli to the *x*-chromosome and to autosomes.

Figs. 94—95. Late strepsistene stage, showing the disappearance of the chromatic nucleoli.

Figs. 96—100. The formation of the tetrads from the strepsistene threads. The condensation and shortening of the *x*-chromosome is very noticeable.

Figs. 101—102. Consecutive sections of prophase of first spermatocyte division, showing all the chromosomes.

Figs. 103—117. Stages in the formation of the macrochromosome bivalent of *E. curvata*.

Figs. 118—119. Macrochromosome tetrad of *E. binotata*. Figure 118 from deep part of tubule, Figure 119 from edge of section. Material fixed in Hermann's fluid and then stained in crystal violet and alizarin.

Fig. 120. Prophase of first spermatocyte of *E. curvata* showing attachment of x-chromosome to autosome bivalents.

Fig. 121. Late prophase of first spermatocyte of *E. curvata*, showing all the chromosomes. The x-element is longitudinally cleft. Smear preparation.

Figs. 122—141. First spermatocyte division of *Enchenopa binotata.*

Figs. 122—125. Consecutive sections (122—124 optical sections) of metaphase. Lateral view, showing all ten bivalents.

Figs. 126—127. Metaphase in polar view.

Figs. 128—135. Lateral views showing the allosome pair (xy).

Fig. 136. Lateral view of metaphase, from edge of section, stained in crystal violet after fixation in Hermann's fluid, showing quadripartite form of autosome gemini and deeply staining xy pair.

Fig. 137. Early anaphase, lateral view. The connecting strand of the xy pair just broken.

Fig. 138. Early anaphase from edge of section. xy pair deeply stained. Fixation in Hermann's fluid, crystal violet stain.

Fig. 139. Later anaphase.

Fig. 140. End of anaphase. Chromosomes in flat plate.

Fig. 141. Polar view of chromosome complex belonging to one of the second spermatocytes. The chromosomes are longitudinally cleft in preparation for the second division.

Plate XXI.

Figs. 142—163. Division of first spermatocyte of *Enchenopa curvata.*

Figs. 142—143. Polar views of metaphase.

Figs. 144—147. Consecutive sections (144—146 optical sections) during metaphase. Lateral view showing all the chromosomes.

Figs. 148—149. Lateral views of metaphase showing the thick fibers between the x-chromosome and the autosomes.

Fig. 150. Section of a cell in early anaphase. Lateral view, showing the x-element.

Figs. 151—152. Later anaphase in lateral view. The separation of the autosomes and the lengthening of the x-chromosome is here normal.

Fig. 153. Late anaphase and passing of x-chromosome to the upper cell.

Fig. 154. Stage corresponding to Figure 153, showing only the cell to which the x-chromosome passes, viewed from the equator of the spindle.

Figs. 155—163. Anaphase. Lateral views showing unusual cases in which the x-element is either rotated 90° on its axis (Figs. 155, 157—159), or is drawn out in normal orientation and sometimes divided (Figs. 156, 160—163).

Figs. 164—179. Second spermatocyte division of *Enchenopa binotata.*

Figs. 164—166. Metaphase in polar view.

Figs. 167—169. Consecutive sections of a single cell in metaphase. Lateral view showing all ten chromosomes.

Figs. 170—174. Successive stages in the separation of the daughter chromosomes.

Fig. 173. Polar view of anaphase group seen in stage corresponding to Figure 172.

Fig. 175. Telophase group of chromosomes before they lose their condensed condition.

Figs. 176—178. Spermatids of *E. binotata* from smear preparations. The allosome (x or y) remains condensed.

Fig. 179. Spermatid of *E. binotata* from a section. The allosome (x or y) plainly visible.

Figs. 180—190. Second spermatocyte division of *Enchenopa curvata.*

Fig. 180. Metaphase seen in polar view. Nine-chromosome cell.

Fig. 181. Metaphase of ten chromosomes, second spermatocyte.

Figs. 182—184. Consecutive sections of metaphase. Lateral view. Nine-chromosome cell.

Fig. 185. Section showing lateral view of metaphase, and the broad macrochromosome.

Figs. 186—187. Chromosomes of anaphase showing two corresponding groups of chromosomes. Sections are from one cell cut through the equator.

Fig. 188. Double second spermatocyte with nineteen chromosomes.

Fig. 189. Spermatid with x-chromosome.

Fig. 190. Spermatid without x-chromosome.

Figs. 191—198. *Thelia bimaculata.*

Fig. 191. Metaphase of spermatogonium, polar view, showing the large x-chromosome.

Fig. 192. Metaphase of oögonium, polar view, showing two large x-chromosomes.

Figs. 193—194. Growth period of spermatocytes.

Fig. 195. Metaphase of first spermatocyte division, polar view.

Fig. 196. Same in lateral view.

Fig. 197. Anaphase of first spermatocyte division, the x-chromosome lagging.

Fig. 198. Late anaphase of first spermatocyte and the passage of the x-element to the upper of the two poles.

Fig. 199. Spermatid showing the large condensed x-chromosome.

Plate XXII.

Figs. 200—210. *Enchenopa binotata.*

Diagrammatic representation of the behavior of the allosomes and autosomes during the growth period and divisions of the spermatocytes. The macrochromosome, one pair only of the smaller autosomes and the allosome (xy) are represented.

As described in Part B (p. 284) of "Discussion", solid black = "autochromatin"; white (i. e. outlines only) = "x-chromatin"; small circles = "y-chromatin"; dots = linin.

Fig. 200. Bouquet stage, x and y united end to end.

Fig. 201. Loss of polar arrangement; x and y laterally approximated.

Fig. 202. Strepsistene stage; x and y separated along their lengths; autosomes twisted around each other.

Figs. 203—204. Contraction of the xy pair and formation of the autosome gemini.

Fig. 205. Metaphase of first spermatocyte.

Fig. 206. Late anaphase of first spermatocyte; x passes to second spermatocyte a; y passes to second spermatocyte b.

Fig. 207. Division of second spermatocyte a of Figure 206, containing the x-component.

Fig. 208. The spermatids (a^1 and a^2) resulting from the division of a, Figure 207. Each contains half of the x-component and is "female determining".

Fig. 209. Division of second spermatocyte b of Figure 206, containing the y-component.

Fig. 210. The spermatids (b^1 and b^2) resulting from the division of b, Figure 209. Each contains half of the y-component and is "male determining".

Figs. 211—222. *Enchenopa curvata.*

(Compare with Figures 200—210.)

Diagrammatic representation of the behavior of the allosomes and autosomes during the growth period and divisions of the spermatocytes. The macrochromosome, one pair only of the smaller autosomes, the x-chromosome and the chromatic nucleoli are represented.

As described in Part B (p. 284) of "Discussion", solid black = "autochromatin", white (i. e. outline only) = "x-chromatin", small circles = "y-chromatin", dots = linin.

Fig. 211. Bouquet stage; x and chromatic nucleoli at the positive pole.

Fig. 212. Loss of polar arrangement. Chromatic nucleoli connected to the autososome and to the x-chromosome.

Fig. 213. The strepsistene stage. The chromatic nucleoli give up their substance to the autosomes. The linin fibers connecting the x-chromosome to the autosomes remain.

Figs. 214—215. The formation of the autosome gemini. The x-chromosome is fully contracted. Linin fibers connect it to the autosome gemini.

Fig. 216. Metaphase of first spermatocyte division.

Fig. 217. Anaphase of first spermatocyte division. The x-chromosome lengthened in the direction of the axis of the spindle. Linin fibres connect it to the separating autosomes.

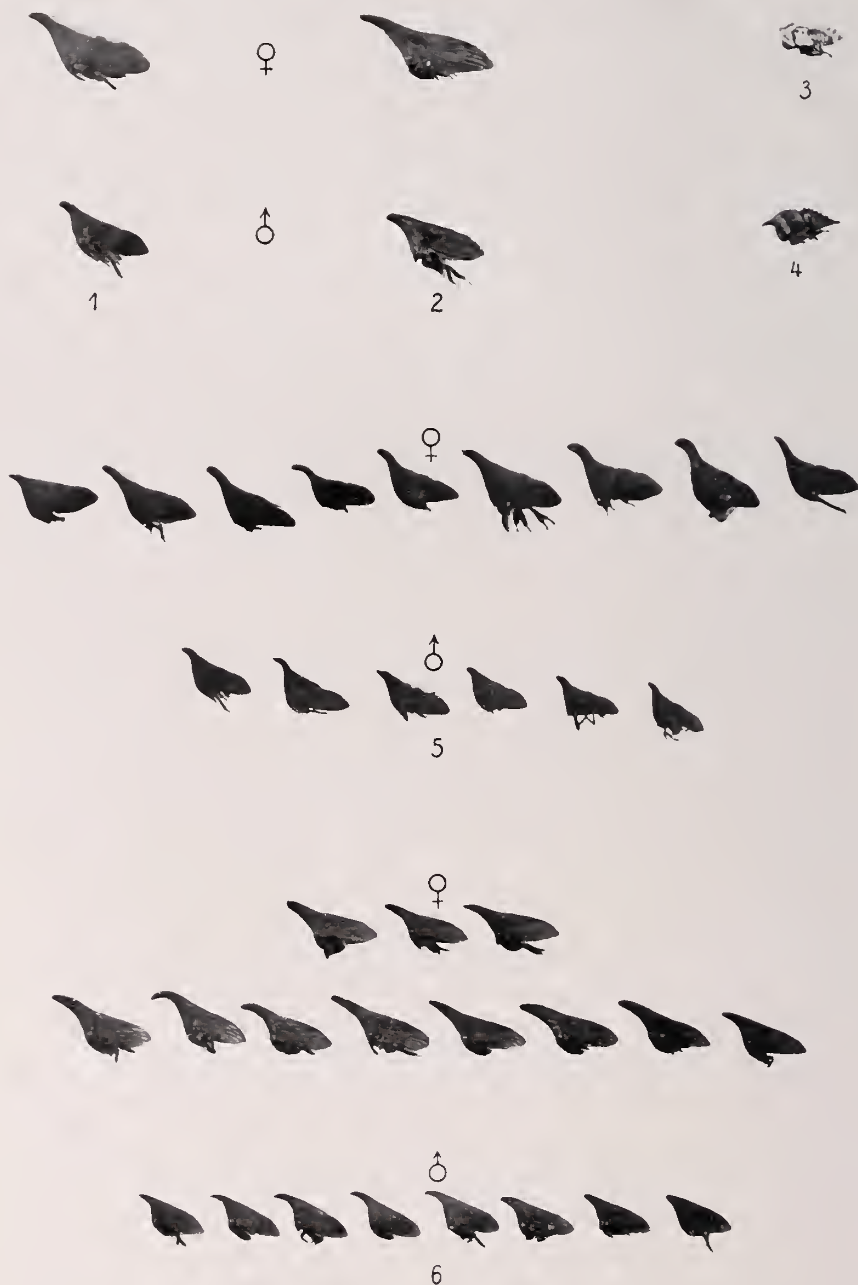
Fig. 218. Late anaphase. x passes to one of the second spermatocytes (a) undivided.

Fig. 219. Division of the second spermatocyte (a, Figure 218) which contains the x-chromosome.

Fig. 220. The spermatids (a^1 and a^2) resulting from the division of a, Figure 219. Each contains one half of x and is "female determining".

Fig. 221. Division of the second spermatocyte (b of Figure 218) which contains no "x-chromatin".

Fig. 222. The spermatids (b^1 and b^2) resulting from the division of b, Figure 221. They contain no "x-chromatin" and are "male determining".

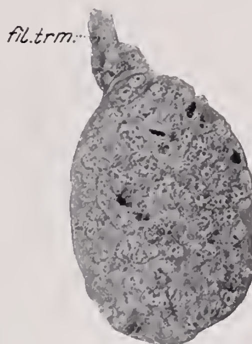


Kornhauser.

Verlag von Wilhelm En[gelmann]



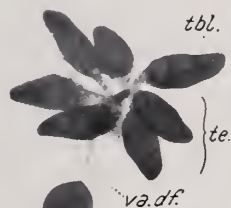
8



10



13

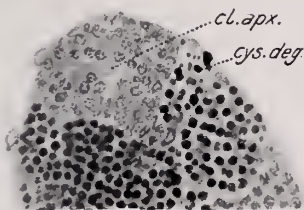




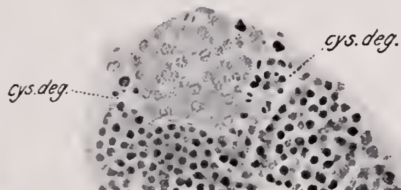
7



9

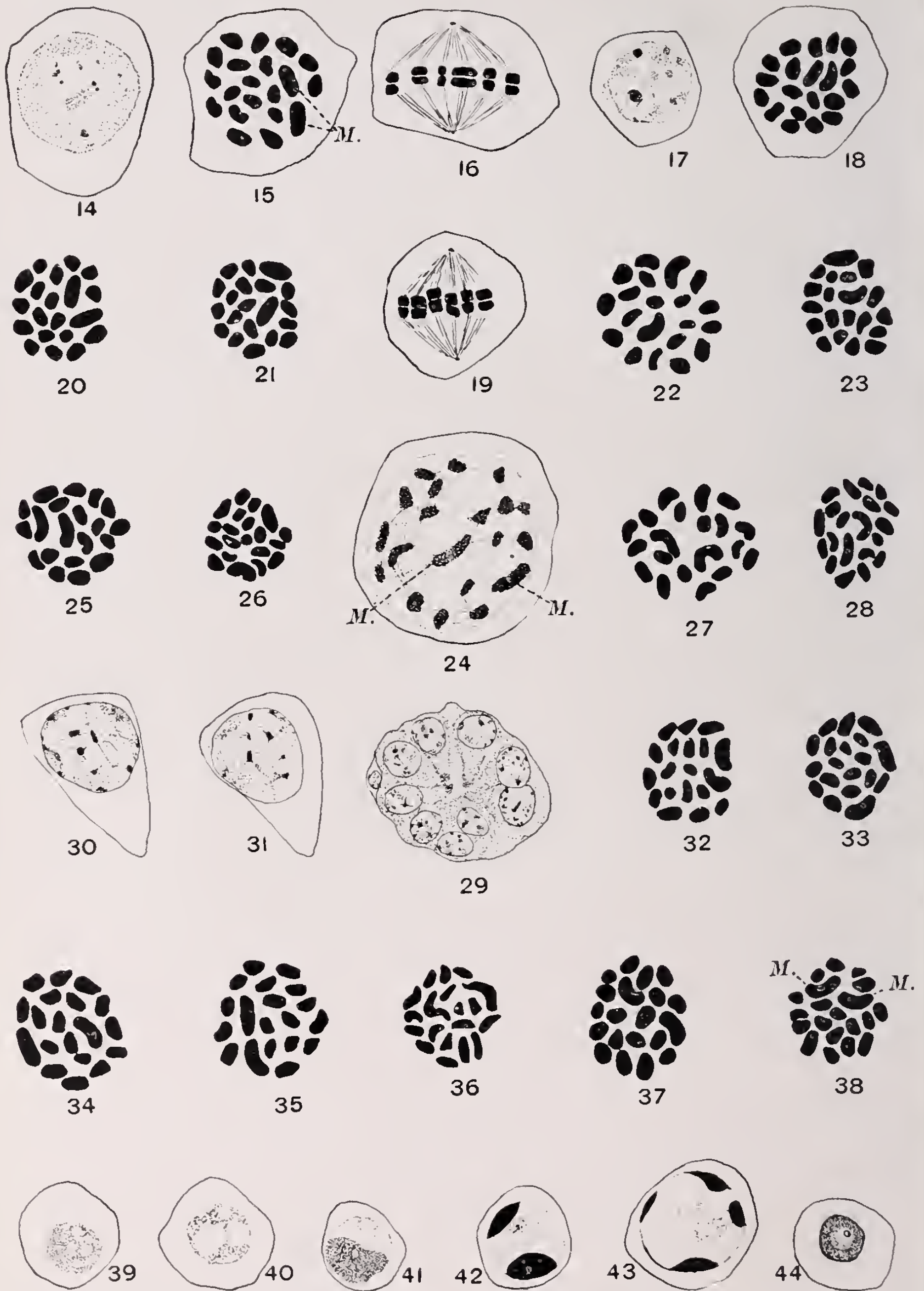


11



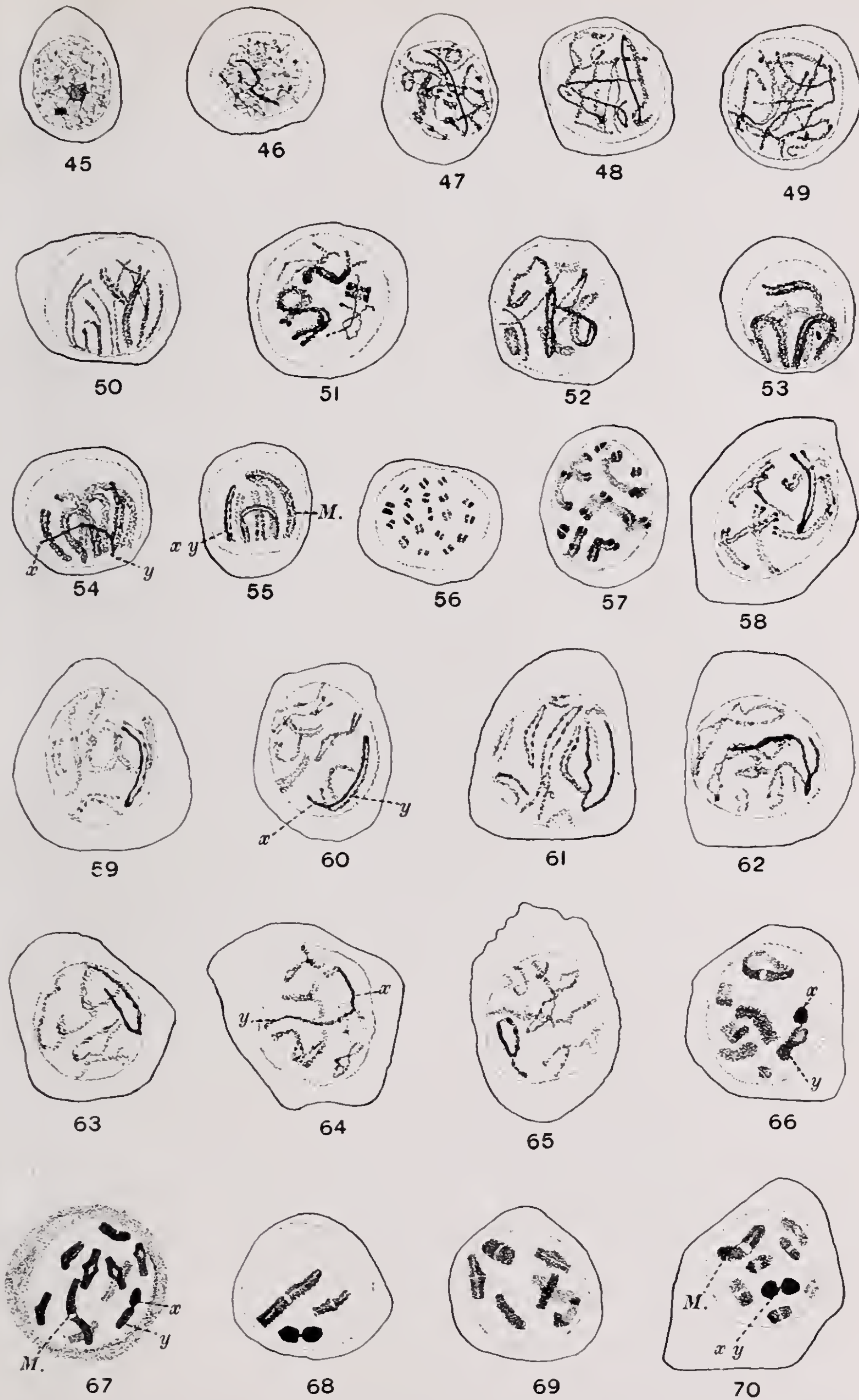
12

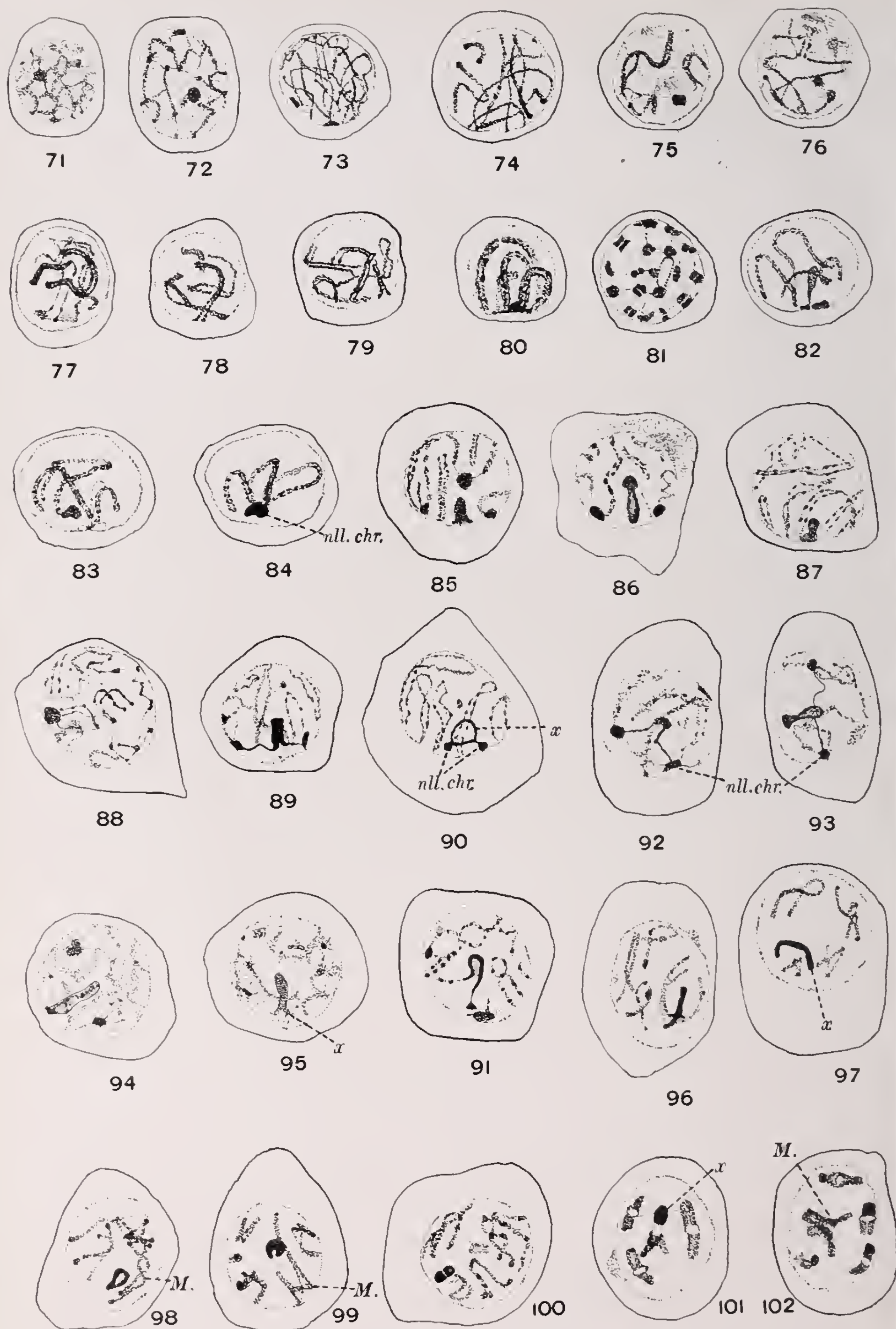
mann in Leipzig und Berlin.

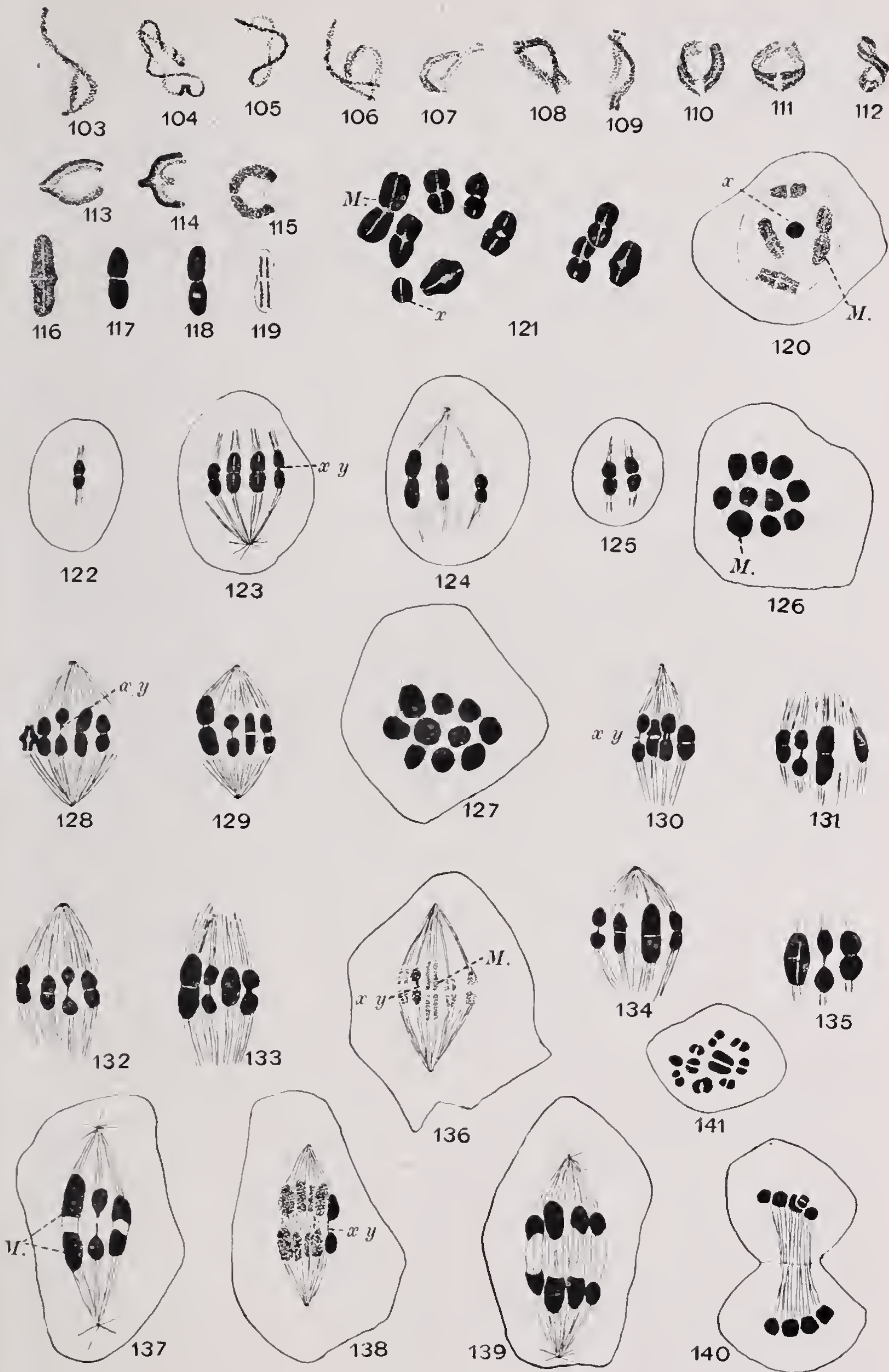


Kornhauser.

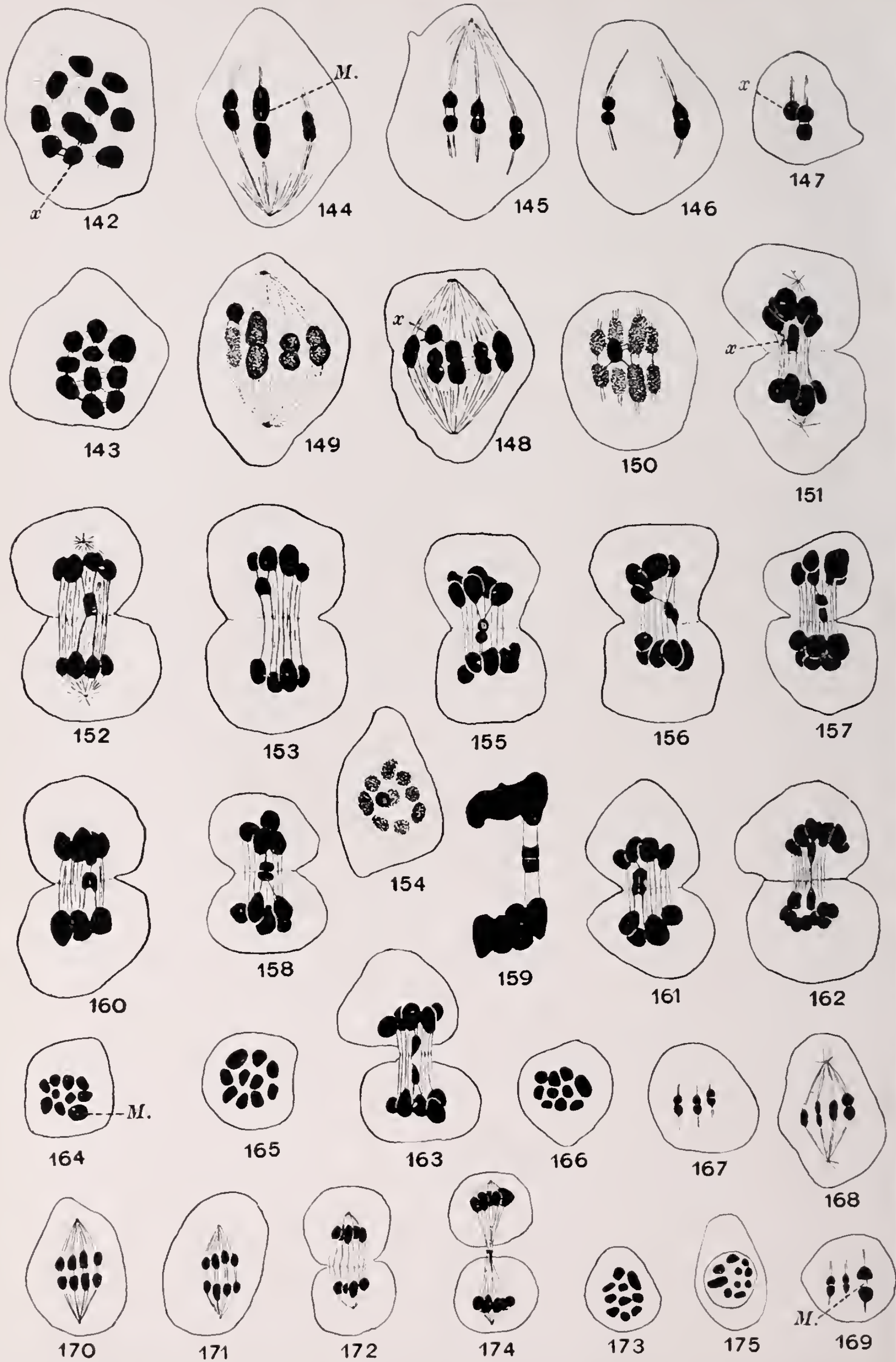
Verlag von Wilhelm Eng


45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
x
y
55
M.
x y
56
57
58
59
60
x
y
61
62
63
64
x
y
65
66
x
y
67
x
y
M.
68
69
70
M.
x y

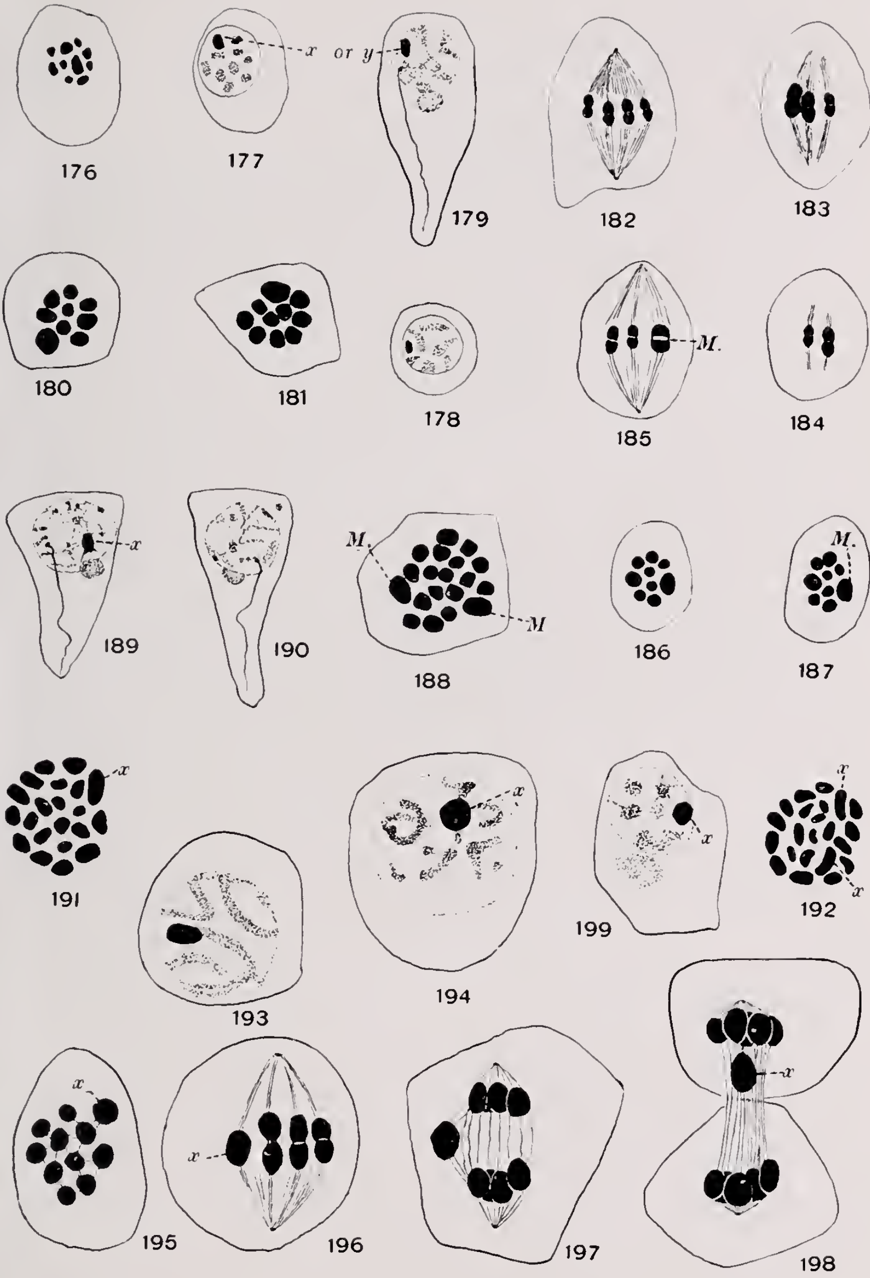

71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
nll. chr.
85
86
87
88
89
90
x
nll. chr.
92
nll. chr.
93
94
95
x
91
96
97
x
98
M.
99
M.
100
101
x
102
M.

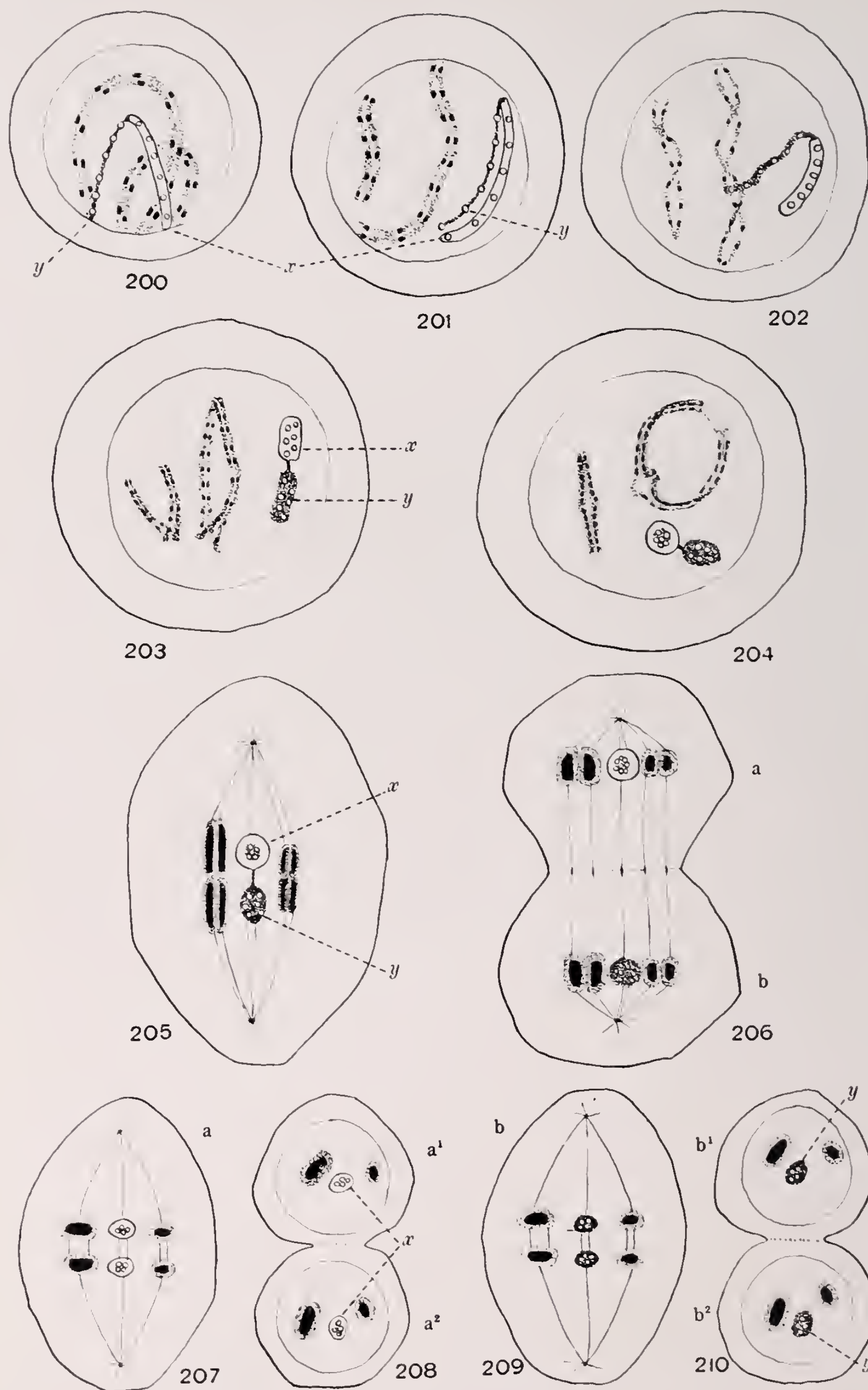


n in Leipzig und Berlin.

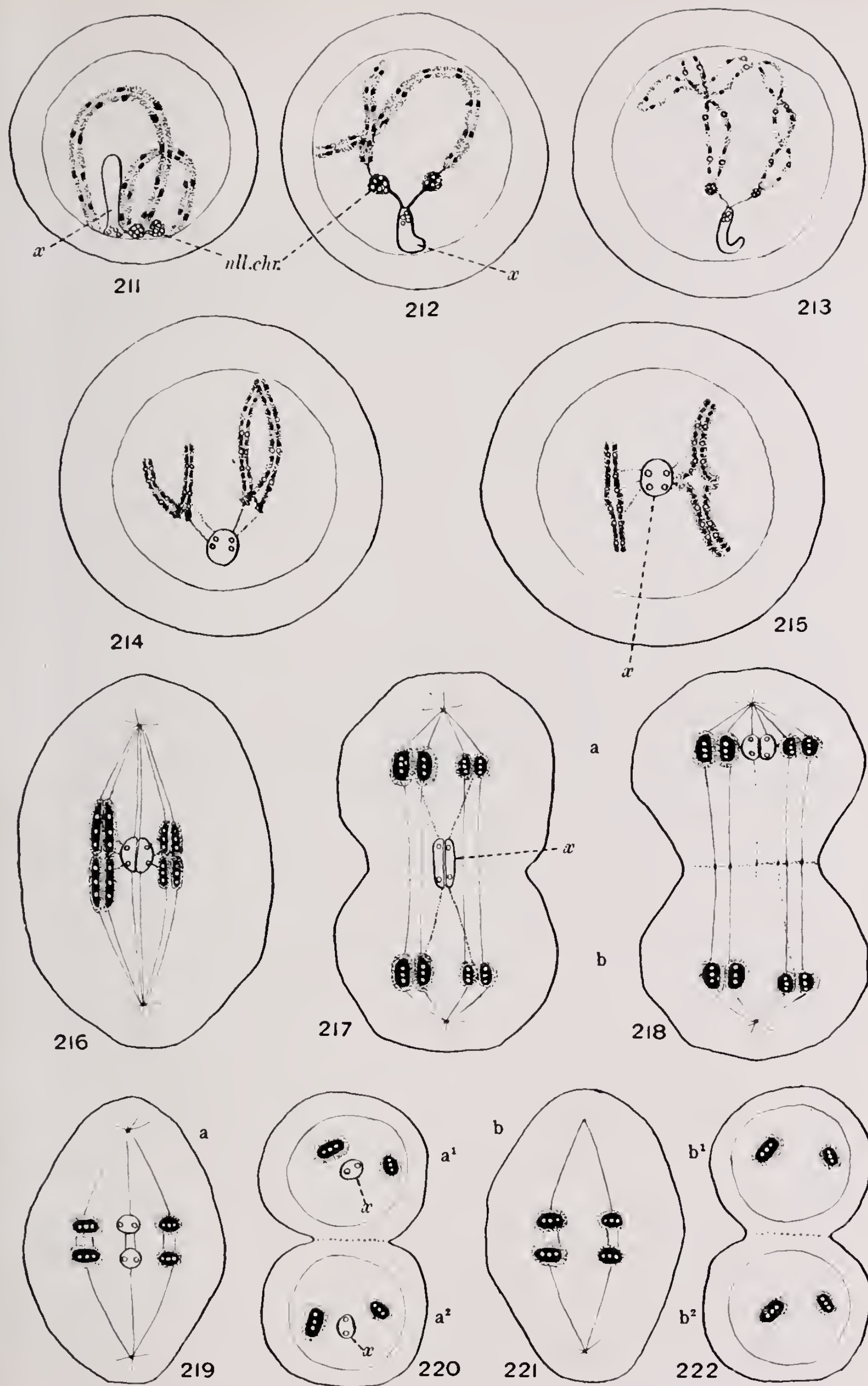


M.
x
142
144
145
146
147
143
149
148
150
151
152
153
155
156
157
154
160
158
159
161
162
164
165
163
166
167
168
170
171
172
174
173
175
169


x or y
M.
M
x
176
177
179
182
183
180
181
178
185
184
189
190
188
186
187
191
193
194
199
192
195
196
197
198



200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
x
y
a
b
a¹
a²
b¹
b²


x
nll.chr.
211
x
212
213
214
x
215
216
a
x
b
217
218
a
219
a¹
x
a²
x
220
b
221
b¹
b²
222

Beitrag zum Studium der Zellverschmelzung und der cellulären Erscheinungen.

I. Teil: Die Ovogenese von Tubifex (Ilyodrilus) bavaricus[1]).

Von

Albert Oschmann.

(Aus dem Zoologischen Institut in München.)

Mit 16 Textfiguren und Tafel XXIII—XXVII.

Inhalt.

---

[1]) Beschrieben im Zool. Anz. Bd. XLII, Nr. 12.

Einleitung.

Bei der Untersuchung von geschlechtsreifen Tubificiden fielen mir merkwürdige Befunde an der weiblichen Geschlechtsdrüse auf, die mir das Studium der Eibildung dieser Tiere für notwendig erscheinen ließen. So wurde dieses der Ausgangspunkt zu einer Reihe von Untersuchungen über die Zellverschmelzung, speziell bei Ovogenesen. Die Ovogenese von *Tubifex bavaricus* kann ich umso eher als ersten Teil dieser Arbeit veröffentlichen, als die Befunde, welche sie ergab, relativ am einfachsten sind und zu den komplizierteren bei andern Objekten direkt überführen. Zugleich waren die cellulären Elemente, wegen ziemlicher Größe, für die Beobachtung der chromatischen Zellstrukturen äußerst günstig, sodaß die diesbezüglichen Ergebnisse, welche zum Verständnisse der ganzen

Frage von fundamentaler Bedeutung sind, bei dem später untersuchten Materiale, das in mancher sonstigen Beziehung noch interessanter ist, nicht oder mindestens nicht so leicht hätten aufgefunden werden können.

Es war mir vergönnt, diese Arbeit, sowie alle meine zoologischen Studien, im Münchener Zoologischen Institute zu machen und ist es mir eine Freude, auch an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Richard von Hertwig, sowohl für die Mühe, die er sich bei meiner Ausbildung zum Zoologen gab, und seine Güte, Liebenswürdigkeit und die Geduld, welche er mit mir hatte, als auch für seine Unparteilichkeit und das rege Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte, meinen tiefempfundensten Dank und Erkenntlichkeit aussprechen zu können.

Auch habe ich bei meinem Studium Herrn Professor Dr. Richard Goldschmidt sehr viel zu verdanken, und möchte nicht versäumen, auch ihm von Herzen den schuldigen Dank auszusprechen.

Dann habe ich Herrn Professor Dr. W. Michaelsen des Naturhistorischen Museums in Hamburg vielmals und herzlichst zu danken für die große Freundlichkeit, welche er hatte, die Tubificide, deren Ovogenese ich untersuchte, zu bestimmen, wobei sich herausstellte, daß es sich um eine neue Art handelte.

Spezieller Teil.

Material und Methoden.

Das Material entstammte dem Tümpel des Münchner Zoologischen Institutes, welcher des öfteren mit Schlamm aus dem Dachauer Moose und der Umgebung des Starnbergersees angefüllt worden war. Die Tiere, welche Februar—März geschlechtsreif sind, wurden aus dem Schlamme isoliert, indem eine kleine Portion desselben auf großen Tellern mit etwas Wasser verdünnt wurde. Nach Absitzenlassen und nachdem das Wasser sich geklärt hat, kann man die Tiere in der dünnen Schlammschicht deutlich herumkriechen sehen und mit aller Bequemlichkeit mit einer Pinzette herausfangen. Hierauf wurden sie von anhängendem Schmutz befreit und in einen mit Leitungswasser gefüllten Teller gebracht. In diesem verblieben sie, mit einem Karton bedeckt (da sie sich in der Dunkelheit in reinem Wasser nicht zusammenknäueln), einige Stunden lang, bis der Darm sich mindestens in den ersten Segmenten des Tieres, welche eingebettet wurden, von seinem Inhalt befreit hatte. Dann wurden die Tiere fixiert, und zwar indem jedes einzeln auf einen Objektträger gelegt und

vermittels eines Pinsels der Länge nach mit der Fixierflüssigkeit bestrichen wurde, worauf es ganz in die Fixierflüssigkeit kam. Auf diese Art erhält man die Tiere völlig gestreckt. Von Fixiergemischen wurden angewandt ein Sublimatgemisch, welches BUGNION und N. POPOFF in: la spermatogénèse du lombric terrestre, Arch. de Zool. expér. et génér., 1905 T. III, angeben (Sublimat 15, konz. Salpetersäure 7,5, Eisessig 2,5, sechzigprozentiger Alkohol 50, dest. Wasser 450); diese Fixation leistete bei meinem Objekte Vorzügliches. Ebenfalls ausgezeichnet fixierten FLEMMING und HERMANN, nur daß man dann nicht die unbegrenzte Auswahl der Farben hat. Die ersten 16 bis 20 Segmente des Tieres wurden abgeschnitten und in Paraffin eingebettet, hierauf in Serienschnitte von 5 μ zerlegt.

Die Schnitte färbte ich teils mit Hämalaun-Eosin (2—4 Stunden in 8—10fach verdünnter Hämalaunlösung, kurz in Eosin), was bei aller Einfachheit der Handhabung eine ausgezeichnete Färbungsweise ist, teils mit Eisenhämatoxylin, ferner mit Karmin nach P. MAYER, Mitt. Zool. Stat. Neapel Bd. 2, referiert in BÖHM und OPPEL, Taschenbuch der Mikroskopischen Technik. Diese Farbe färbte Schnitte sehr intensiv und dennoch durchsichtig, was für eine Färbung sehr angenehm ist, da die übereinanderliegenden Teile sich nicht so leicht verdecken. Jedoch mußte ich die Farbe jedesmal neu herstellen, da bei längerem Stehen der größte Teil des Farbstoffes ausfiel. Dann habe ich noch dreifach FLEMMING angewandt, und zwar nach einer Modifikation von WINIWARTER, nur daß ich statt Orange Lichtgrün anwandte, welches sich von den übrigen Farben viel besser abhebt (Safranin alk. 1, Alkohol 50, destill. Wasser 50, färben 24 Stunden; destill. Wasser abspülen; Gentianaviolett 1, destill. Wasser 100, färben 3—4 Stunden; destill. Wasser abspülen; Lichtgrün 0,5, destill. Wasser 100, färben 1 Minute; destill. Wasser abspülen, dann absoluter Alkohol 1—2 Sekunden, bis sich eben etwas Violett zu lösen beginnt, differenzieren in Nelkenöl mit wenig absolutem Alkohol, hierauf reines Nelkenöl, Xylol, Canadaxylolbalsam). Diese Färbung gab sehr schöne Resultate, insbesondere wurde das Grundwabenwerk sehr deutlich gefärbt.

Bevor ich nun an die Besprechung der Ovogenese gehe, möchte ich kurz einiges über die Serierung der Bilder vorausschicken. Die Reihenfolge der ersten Stadien, jüngste Ovogonien, Teilung, Synapsis, kurze Wachstumsperiode, Verschmelzung ergeben sich von selbst und es kann da kein Zweifel herrschen. Innerhalb der Verschmelzungsperiode kann man das Alter einer verschmolzenen Gruppe zunächst an ihrer Größe erkennen und ob die Kerne zum größten Teil noch nicht verschmolzen sind, d. h. noch dieselbe Größe, wie die Kerne der umliegenden Zellen auf-

weisen (Fig. 63, Taf. XXV). Das relative Alter weiter vorgeschrittener Gruppen, welche nicht mehr wachsen, kann man an der Größe und Zahl der Kerne unterscheiden, von denen die erstere zunimmt, während die letztere immer abnimmt, bis nur ein einziger Kern in der Verschmelzungsgruppe mehr vorhanden ist (Textfig. 12, Fig. 30, Taf. XXIII, entsprechend Fig. 32, Taf. XXIII.) Die weitere Entwicklung bringt nun das aus der Verschmelzung hervorgegangene Ei außerhalb des Komplexes der übrigen Zellen zu liegen (Fig. 63, Taf. XXV und Fig. 43, Taf. XXIV). In der zweiten Wachstumsperiode hat man anfänglich zwischen Fig. 43 und Fig. 45, Taf. XXIV, als Kriterium die Größe des Kernes und der Zelle. Von dem Stadium der Fig. 45 an, findet keine Veränderung in der Größe des Kernes mehr statt, welche ungefähr 45 μ beträgt. Wo demnach die Figuren geringere Dimensionen aufweisen, rührt es daher, daß nicht der Schnitt mit dem größten Durchmesser wiedergegeben ist. Außerdem haben wir in den Verhältnissen des Plasma ein sicheres Kennzeichen für das Fortschreiten in der Entwicklung; schon in Fig. 43 beginnt sich um den Kern eine eigenartige plasmatische Zone abzuscheiden, welche sich stets vergrößert, Fig. 65, Taf. XXV, Fig. 32, Taf. XXIII, entsprechend dem Kerne auf Fig. 44, Taf. XXIV; in noch späteren Stadien beginnt in dieser Zone die Abscheidung von besonderen Körnchen, welche zur Dotterbildung beitragen und eine ebenfalls immer größer werdende Schicht markieren, Fig. 71 und Fig. 72, Taf. XXV. Bei Auflösung des ersten Nucleolus der zweiten Wachstumsperiode hat nun die Dotterbildung schon eingesetzt, noch ziemlich spärlich und einen Teil um den Kern herum noch wenig berührend, Fig. 73, Taf. XXV, entsprechend den Kernen auf Fig. 45, 47, 48 und 49, Taf. XXIV.

Hingegen ist die Dotterbildung bei Entstehung des zweiten Nucleolus schon viel weiter vorgeschritten, Fig. 51, und die Dotterkörner sind viel zahlreicher geworden. Immerhin sind aber noch viel plasmatische Substanzen im Ei enthalten und der größte Teil der Dotterkörner hat die definitive Größe noch nicht erreicht. Diese Entwicklung schreitet nun immer vorwärts, Fig. 74, Taf. XXV, Fig. 86, Taf. XXVII, und bei Zerfall dieses zweiten Nucleolus ist sie völlig beendet, Fig. 88 und 89, Taf. XXVII, welcher die Kerne der Fig. 56 und 57, Taf. XXIV entsprechen. Die Stadien der Fig. 58, 60, 61 und 62, Taf. XXIV, können nun wiederum nur auf die Stadien des Zerfalles des zweiten Nucleolus folgen, nicht etwa vorher liegen, da bei ihnen die Dotterbildung völlig beendet ist, ganz abgesehen davon, daß die dichte Kernstruktur sich nur an die Stadien nach Auflösung des zweiten Nucleolus angliedern läßt. Da zudem die Veränderungen der Kerne, wie aus der Besprechung der Ovogenese hervorgehen dürfte, wohl allein zur Serierung

genügten, so denke ich, daß man an ihrer Richtigkeit nicht zweifeln kann.

Einen andern Punkt möchte ich noch hervorheben. Bei der Besprechung der verschiedenen Stadien der Ovogenese habe ich, bei der Schilderung der einzelnen Bilder gleich meine Interpretation derselben gegeben und nicht zuerst noch den Befund, ohne Deutung desselben geschildert, da sich ja dieser aus den Figuren von selbst ergibt, welche ich stets bestrebt war, möglichst naturgetreu wiederzugeben. Der Leser wird an der Figur ersehen können, ob er meiner Interpretation zustimmt oder nicht. Da ich infolgedessen nicht immer denselben Vorgang zweimal durchnehmen mußte und eine unnötige Weitschweifigkeit vermeiden konnte, glaube ich hierin im Interesse des Lesers gehandelt zu haben.

Verlauf der Ovogenese.

Die Kerne der jüngsten Ovogonien haben eine auffallende Ähnlichkeit mit denen der peritonealen Zellen. Ihr Chromatin besteht, wie bei diesen, aus kugelrunden Körnchen, die recht regelmäßig auf der Kernperipherie verteilt sind (Fig. 1, Taf. XXIII). Nur sind die Ovogonienkerne größer als die der gewöhnlichen Peritonealzellen, doch kann man von letzteren, zumal denen, die in das Ovar zu liegen kamen und wahrscheinlich eingewandert sind, alle möglichen Übergänge bis zur Größe der Kerne der Ovogonien finden (vgl. oben zitierte Fig. 1). Groß sind hingegen die Unterschiede in der Färbbarkeit der chromatischen Teile dieser jüngsten Ovogonien, sowohl mit denen der Peritonealkerne, als auch der Ovogonien des unmittelbar folgenden Stadiums. Während das Chromatin der zwei letzteren Gruppen sich intensiv basisch färbt, also z. B. nach Doppelfärbung mit Hämalaun-Eosin eine tiefblaue Färbung durch den Hämalaun annimmt, zeigt das Chromatin der jüngsten Ovogonien eine starke Affinität zu den sauren Farbstoffen, tingiert sich also bei obiger Färbung rot durch Eosin oder mindestens rot-violett (vgl. ebenfalls Fig. 1, Taf. XXIII).

Diese Tatsache ließe sich sehr wohl damit in Einklang bringen, daß es sich, wie ich schon oben berührte, um eine Entstehung der Ovogonien aus den Peritonealzellen handelt; wir können bei jeder Ovogenese in späteren Stadien die Beobachtung machen, wie beim Eintritt in eine neue Periode, bei offenbar starker Inanspruchnahme des Kernes, die Farbenaffinität seiner chromatischen Substanzen umschlägt, und eine analoge starke Inanspruchnahme dürfte wohl bei der Umbildung der Peritonealzellen in Ovogonien gegeben sein.

Die Ovogonienkerne besitzen einen kleinen, meist central gelegenen, bläschenförmigen Nucleolus, der ebenfalls mit sauren Farbstoffen sich färbt und zu geringe Dimensionen besitzt, um eine bestimmte Struktur erkennen zu lassen. Es sieht aus, als ob feine, schwer sichtbare, ungefärbte, und daher nur durch verschiedene Lichtbrechung erkennbare Fasern von ihm zur Kernperipherie ziehen, dort die einzelnen Chromatinkörnchen netzwerkartig verbindend.

Das Plasma tingiert sich acidophil, weist hie und da dichtere Schollen auf und läßt auf diesem Stadium absolut keine Zellgrenzen unterscheiden, was ebenfalls in der Abstammung der Gonaden seine Erklärung finden würde.

Das Chromatin nimmt später in den Ovogonienkernen eine intensiv basische Färbbarkeit an, verteilt sich, in feinere Körnchen zerfallend, auf dem Reticulum, die Bahnen zum Nucleolus treten deutlicher hervor, offenbar durch Imprägnation mit chromatischen Teilchen, der Nucleolus selbst erscheint aus mehreren Bläschen zusammengesetzt, und so haben wir denn das typische Bild des leider als »Ruhe«-Kern bezeichneten Stadiums (Fig. 1, Taf. XXIII).

Diesen Kernen findet man dicht angelagert und sie zum Teil kappenartig umschließend, scharf umschriebene, intensiv färbbare (acidophile) Gebilde, in denen manchmal festere Schollen zu unterscheiden sind (Fig. 1, Taf. XXIII, die Kerne rechts in der Figur). Dieselben werden später im Plasma nicht mehr erkennbar, welches, von diesen Stadien der Eibildung an, eine intensiv basische Färbbarkeit annimmt, die es unverändert bis gegen Ende der Genese beibehält, bis fast sämtliche außerhalb des Kernes befindliche Substanzen sich in deutoplasmatische verwandeln.

Inmitten der soeben beschriebenen Ovogonien findet man die Teilungsbilder, von denen ich zwei in Fig. 2, Taf. XXIII, wiedergegeben habe. Ich kann es, an Hand des zurzeit untersuchten Materiales, nicht entscheiden, ob dieselben aus den letzteren Ruhekernen entstanden sind, oder nicht schon aus den jüngsten, metamorphosierten Ovogonien, da mir nur Tiere, die schon reifere Eier enthielten, vorlagen, und bei solchen die Ovarialteile jüngeren Stadiums, falls noch vorhanden, spärlicher geworden sind. Da nun in diesen sowohl jüngste Ovogonien als auch Ruhekerne, Teilungen, Synapsisbilder und ihre Auflösung regellos durcheinanderliegen, ist eine Serierung in bezug auf die Teilung unmöglich. Doch dürfte diese Frage für die vorliegende Untersuchung belanglos sein. Die Beobachtungen, die ich bei den Teilungsstadien machte, spielen für das Verständnis des Verlaufes der Ovogenese keine Rolle, und so werde ich sie,

um Wiederholungen zu vermeiden, im allgemeinen Teile, im Zusammenhange mit der Richtungsspindelbildung, besprechen.

Nach der Teilung hätten wir dann wieder Ruhekerne, wie die oben beschriebenen, hierauf folgt, der Lagerung im Ovar nach zu urteilen, offenbar sehr schnell die Synapsis. In dieser finden wir die typischen Bilder, entweder ein langes aufgewickeltes und oft polar zusammengeknäueltes chromatisches Band (eigentliche Synapsis), wie in Fig. 93 und 94, Taf. XXVII, oder, aus diesem hervorgegangen, einzelne chromatische Schleifen (Bukettstadium), Fig. 95, 96, 97. Die Kernsubstanzen müssen in starker Strömung begriffen sein, wie gerade das Zusammenballen des Knäuels und die polare Anordnung beweisen, und es muß im Kerne ein ziemlicher Druck entstehen, wie z. B. Fig. 98 erkennen läßt, bei welcher die von Chromatin freie Kernhälfte stark vorgewölbt wird. Es mag daher nicht wunderbar erscheinen, wenn hierbei hie und da Zerreißungen entstehen und von den spitzen chromatischen Schleifen die eine oder andre durchbricht und in das Plasma zu liegen kommt, wie Fig. 97 einen solchen Vorgang unter vielen darstellt. Ferner ragt oftmals ein Ende der chromatischen Schleife weit über den normalen Kernbezirk hinaus, wie in Fig. 100, 101 und 102, und dürfte wohl nachträglich vom Kerne abgeschnürt werden, ja manchmal verläuft diese Schleife sogar über den normalen Zellbezirk, wie in Fig. 101 und 102. (Für den Kern der Fig. 102 lag diese Schleife nicht in der optischen Ebene, sondern fast senkrecht dazu, man sieht daher auf der Figur nur ihre Projektion. In Wirklichkeit ist sie viel länger wie die Schleife der Fig. 101.) Um Kunstprodukte kann es sich hierbei nicht handeln, z. B. durch das Messer herausgerissene Teile, da diese chromatischen Schleifen den Schnitt in verschiedenen optischen Ebenen durchziehen, ferner manchmal so groß sind, daß sie in der Form, welche sie aufweisen, keinen Platz in dem Kerne gefunden hätten. Es ist wahrscheinlich, daß aus jedem Kerne, mindestens aus den meisten Kernen, bei der Synapsis etwas Chromatin in das Plasma gerät, denn nach Ablauf dieses Stadiums sieht man im Plasma jeder Zelle bei Eisenhämatoxylinfärbung eine Menge kleiner, runder Kügelchen, die sich intensiv, schwärzen und kein andres Aussehen haben, wie die Chromatinkörnchen im Kern selbst (Fig. 107 und 108). Dieselben werden später aufgelöst; man findet sie in keinem andern Stadium der Ovogenese.

Inmitten der Synapsiszellen fielen mir eine Reihe von Kernen auf, von unterschiedlicher, aber stets winziger Größe, die nie eine »ruhende« Kernfigur aufwiesen, mit Nucleolus und Kernnetz, sondern immer individualisierte, stark chromatisch sich tingierende Schleifen oder Körner zeigten, wie die Synapsiskerne selbst (Fig. 100, 103, 104, 105, 106). Eine

Erklärung als degenerierende Kerne ist nicht stichhaltig, denn einmal sind sie viel zu klein, um degenerierende Ovogonien sein zu können, und dann gibt es keine Degeneration, bei der zuerst differente Chromosomen gebildet würden. Eingewanderte Zellen können es ebenso wenig sein, denn das Tier hat keine derartigen Zellen, weiter spricht die Kernstruktur mit differenzierten chromatischen Elementen ebenfalls hiergegen. Infolgedessen halte ich es für wahrscheinlich, daß es sich um abgeschnürte Teile aus Synapsiszellen handelt; einmal weil ich die Gebilde nur inmitten von solchen gefunden habe, dann weil die Struktur ihrer chromatischen Teile identisch ist mit derjenigen der Kerne bei Auflösung der Synapsis. Außerdem wird dieser Prozeß durch Fig. 104 und 105 und ganz besonders durch Fig. 103 höchst wahrscheinlich gemacht. Betrachtet man ferner Fig. 93, 101 und 102, so ist es sehr leicht denkbar, ja fast zu postulieren, daß das Ende der chromatischen Schleife, welches soweit über das Kerngebiet ragt, abgeschnürt und einem Miniaturkerne Entstehung geben würde. Diese Verhältnisse sind sicherlich nicht normaler Natur, jedoch scheinen die Zellen, unbeschadet derselben, weiter leben zu können, da Degenerationen von Zellen äußerst selten vorkommen, während man die oben beschriebenen Prozesse (Abschnürung von Kernteilen oder Chromatinschleifen) relativ häufig findet. Der Umstand, daß die Kerne sehr dicht aufeinander liegen und bei Synapsis noch anschwellen, sich also gegenseitig pressen, möchte solche Abschnürungen begünstigen. Dieselben Ursachen dürften auch die in Fig. 109 wiedergegebene Erscheinung hervorgebracht haben, daß ein Kern sich vollständig in zwei Teile teilt, was zu den größten Seltenheiten bei dieser Eibildung gehört, da ich nur diesen einen Fall beobachtet habe.

Die oben beschriebenen Miniaturzellen degenerieren pyknotisch und werden nachher aufgelöst.

Ich habe noch nachzuholen, daß man in den meisten Synapsiskernen einen Nucleolus vorfindet, Fig. 93, 98, 99, 100 (der eventuell auch nur einen Restkörper des Nucleolus darstellen kann). Vielleicht ist ein solcher in allen Kernen vorhanden und nur manchmal durch die Chromosomenschleifen verdeckt. Dieser Nucleolus färbt sich mit Eisenhämatoxylin tief schwarz, mit Hämalaun-Eosin dagegen ganz durchsichtig rot, sodaß er sich vom Chromatin der Chromosomen unterscheidet.

Die Auflösung der Synapsis zeigt keine Besonderheit und hierauf folgt eine kurze Wachstumsperiode, die ich, zum Unterschiede von der späteren Wachstumsperiode des unreifen Eies, als die erste bezeichnen möchte.

Die Ovocyte wächst in dieser nicht besonders heran, ihr Kern wird vielleicht doppelt so groß, wie zu Beginn (Fig. 1 gegen Fig. 10, Taf. XXIII),

wichtig ist jedoch, daß viel Plasma gebildet wird, sodaß die Kerne weit auseinander rücken und um sie eine beträchtliche plasmatische Zone entsteht, welche die Zellgrenzen nunmehr auf das deutlichste hervortreten läßt (vgl. Fig. 65, Taf. XXV, und in den Fig. 63, 66, 67, 68, Taf. XXV, und den Textfiguren auf S. 310 und 311 die Zellen um die Verschmelzungsherde).

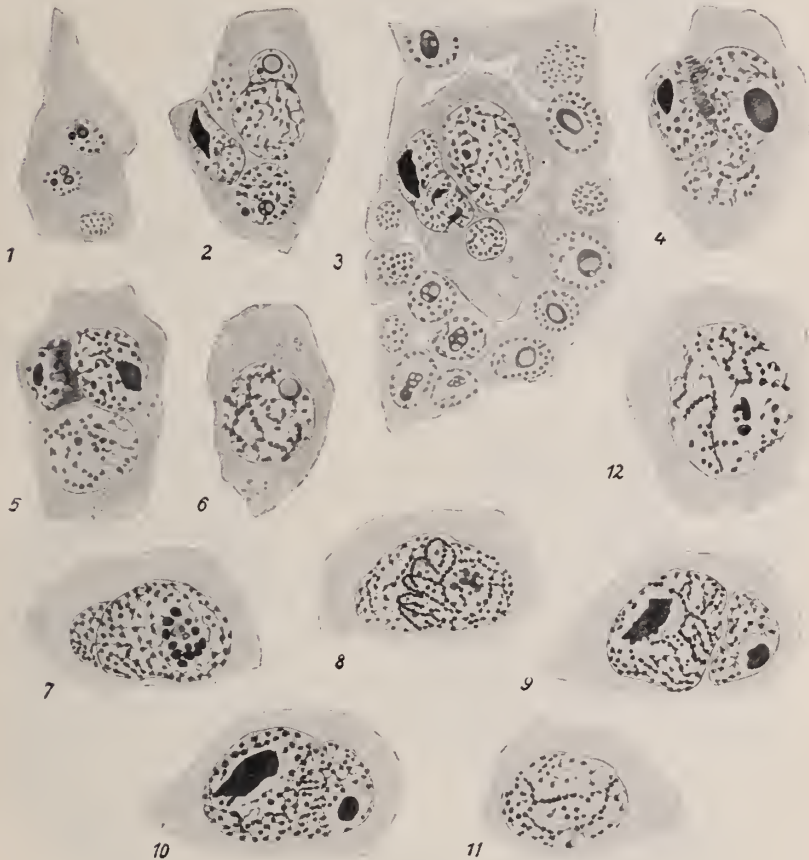
Hierauf treten die Ovocyten in eine neue Periode ein, in welcher die einzelnen Zellen ihre Selbständigkeit aufgeben, nämlich in die Verschmelzungsperiode. In dieser verschmelzen sie schubweise in Mengen zu einem größeren Komplex, zuerst die Plasmamassen, in denen, wie syncytial, die Kerne zu liegen kommen, dann die Kerne, viele zugleich, oder einer um den andern, wie es die Lage ergibt, zu einem einzigen großen Keimbläschen. Die Fig. 63 und 64, ferner 65 bis 70, Taf. XXV, und die Textfiguren, welche nur wenige Bilder aus einem sehr viel größeren Material darstellen, mögen den Verlauf dieses Prozesses illustrieren.

Die Fig. 63 auf Taf. XXV zeigt eine ganz junge, noch kleine Verschmelzungsgruppe. Das Plasma der Zellen ist zusammengeflossen und scheint noch Reste von nicht vollständig aufgelösten Zellwänden aufzuweisen. Die Kerne haben teils noch dieselbe Größe, wie die umliegenden Ovocytenkerne, sind also noch unverschmolzen, teils sind sie eben im Begriff sich zu vereinigen, wie die zwei Kerne rechts auf Fig. 63, Taf. XXV, und Fig. 64, Taf. XXV, die den folgenden Schnitt wiedergibt, oder sie sind gerade aus einer Verschmelzung hervorgegangen, wie der Kern links in der Gruppe, was sich an seiner Struktur leicht erkennen läßt. (In Fig. 20 und 21 auf Taf. XXIII ist derselbe Kern in zwei optischen Ebenen stärker vergrößert gezeichnet.)

Gruppen, wie die eben besprochene, werden durch Hinzutreten der umliegenden Zellen weiter vergrößert und die Fig. 66 bis 70, Taf. XXV, die aufeinanderfolgende Schnitte wiedergeben, stellen uns einen auf diese Weise entstandenen, älteren und bedeutend größeren Komplex vor. Im Verschmelzungsherde liegen (es ist nur ungefähr die Hälfte der Schnitte der Serie dargestellt) eine beträchtliche Anzahl Kerne, von denen ein Teil aus größeren, durch Verschmelzung entstandenen, besteht, während andere noch klein und unverschmolzen sind. Mehrere Kerne der Gruppe sind gerade im Begriff, sich zu vereinigen, wie uns z. B. die Fig. 25, Taf. XXIII, (die zwei Kerne rechts) zeigt, welche stärkere Vergrößerungen solcher Kerne gibt. Der erste Schnitt ist in Fig. 65, Taf. XXV, dargestellt und trifft nur die umliegenden Zellen der Verschmelzungsgruppe, dann beginnt auf dem nächsten Schnitte, Fig. 66, diese Gruppe selbst, die sich, wie die Fig. 68 und 69 zeigen, noch sekundär durch weiteres Einbeziehen von Zellkomplexen vermehrt.

Die Textfig. 1 bis 6 geben uns einen andern Verschmelzungsherd wieder, der ungefähr gleiche Größe, wie der vorhergehende besitzt, dagegen wegen der vorgeschrittenen Kernverschmelzung größere und infolgedessen weniger zahlreiche Kerne aufweist. Wir finden einen Kern (der in den Textfig. 3 und 4 linksgelegene), welcher gerade aus Verschmelzung

Textfig. 1—12.



mit einem darunter gelegenen Kerne entstanden ist, und sich schon wieder mit dem rechts von ihm liegenden Kerne zu vereinigen beginnt (Textfig. 4 und 5 und Fig. 26 auf Taf. XXIII, welche die Verhältnisse genauer darstellt), während dieser letztere Kern selber ebenfalls im Begriffe ist, einen andern Kern einzubeziehen (Textfig. 2). In dieser Gruppe habe ich auch das einzige Mal beobachten können, daß Kerne bei der Verschmelzung

degenerierten. Es handelt sich dabei um drei winzige Kerne, welche die Verschmelzungsgröße noch nicht erreicht haben und offenbar zufällig

Textfig. 13.

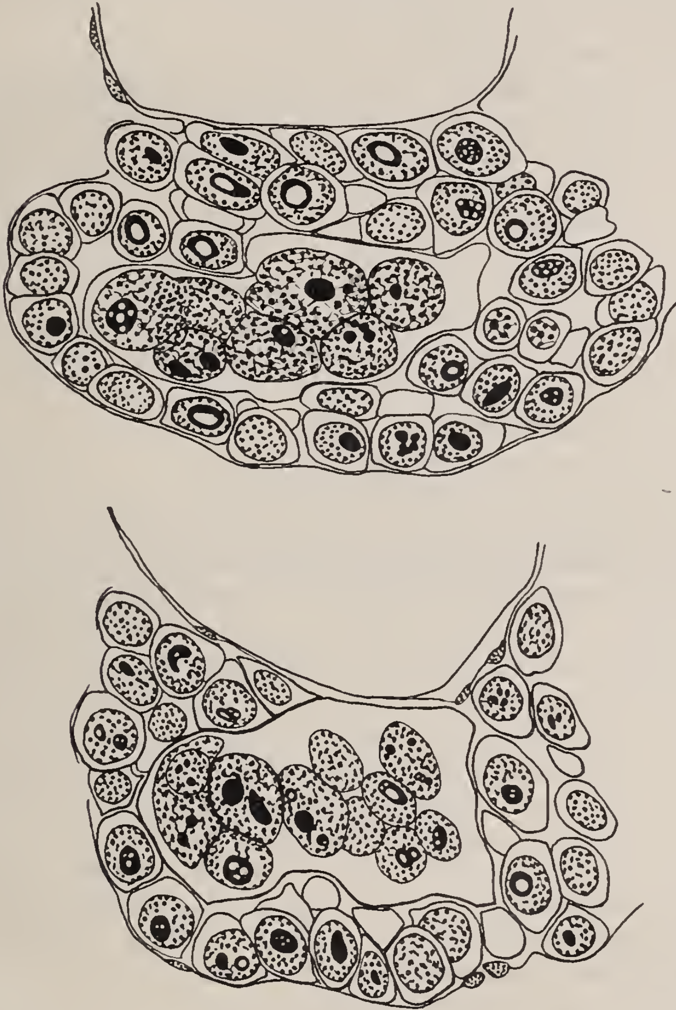
Textfig. 14.



einbezogen wurden. Sie degenerieren durch tropfigen Zerfall ihres Chromatins, das sich (Färbung mit Hämalaun-Eosin) leuchtend hellrot und ganz durchsichtig tingiert, sodaß sich diese Kerne auf das deutlichste von den normal verschmelzenden unterscheiden: In Textfig. 1 sind von den drei kleinen Kernen die zwei oberen in Degeneration begriffen, während

der untere Kern, der offenbar gerade eindrang, noch unverändert ist und sich intensiv blau (mit Hämalaun) färbt. Auf der nächsten Textfig. 2

Textfig. 15 und 16.



sieht man, daß auch die Substanzen dieser degenerierenden Kerne von den andern aufgenommen und verwendet werden können, da das ebenfalls degenerierende Kernchen, oberhalb von dem großen Kerne, von letzterem aufgesaugt wird. Ein Vergleich der Größe dieser tropfig zerfallenden Kerne mit den Kernen der umliegenden Zellen auf Textfig. 3

zeigt, daß die ersteren für die Verschmelzung unmöglich reif sein konnten, und erklärt somit diese Degeneration. Es handelt sich also um ein Zufallsbild, das aber insofern interessant ist, als es uns zeigt, daß degenerierende Kerne, die in Verschmelzungsgruppen vorkommen würden, ganz auffällig sich wahrnehmen lassen müßten.

Von einem gewissen Stadium an werden keine weiteren Zellen mehr einbezogen, und wir finden dementsprechend in solchen Gruppen immer weniger und dafür umso größere Kerne, bis schließlich alle zu einem einzigen Keimbläschen zusammengeflossen sind. So liegen in dem Komplex, den die Textfig. 7 bis 11 wiedergeben und der ebenfalls die ungefähr gleichen Dimensionen, wie die zwei vorhergehenden aufweist, nur noch vier große Kerne, von denen drei im Begriffe sind, sich zu vereinigen; der linksgelegene Kern verbindet sich, nach Textfig. 8, mit seinem rechts über ihm liegenden Nachbar und beginnt wiederum mit dem unter ihm gelegenen Kerne zu verschmelzen (Textfig. 10). Der vierte Kern liegt auf dem späteren Schnitt (Textfig. 11).

Die Textfiguren auf S. 310 und 311 geben einzelne Schnitte aus jeweils einer verschiedenen Gruppe wieder.

Endlich zeigt Textfig. 12 auf S. 309 einen Schnitt durch einen Verschmelzungsherd, der nur mehr einen einzigen großen Kern aufweist. Der ganze Ovarialkomplex, der einem größeren Ei anliegt, ist im Übersichtsbilde, Fig. 32 auf Taf. XXIII, bei schwächerer Vergrößerung (250 mal) wiedergegeben.

Es erübrigt nun, die chromatischen Strukturen und die des Nucleolus und ihre Veränderungen, sowohl vor Beginn der Verschmelzungsperiode, als auch während des Verlaufes derselben durchzunehmen. Die Fig. 3 bis 19 auf Taf. XXIII stellen uns die Kernverhältnisse der Ovocyten am Ende der ersten Wachstumsperiode dar. Betrachten wir die Nucleolen, so fallen uns einerseits ihre riesigen Dimensionen auf, wie in Fig. 3, 4, 10, 11, 12, 18, die uns wohl schon zu schließen erlaubten, daß die Nucleolen nicht zu den unwichtigsten Bestandteilen für das Zelleben gehören könnten, falls man überhaupt von mehr oder weniger wichtigen Bestandteilen sprechen dürfte. Dagegen finden wir in andern Kernen, wie auf Fig. 8, 13, 14, 15, nur mehr geringe Teile von Nucleolen, und die Figuren 5, 6, 7, 9 zeigen uns, wie der Nucleolus sich zerteilt und zerstückelt, sodaß wir alle Übergänge finden zwischen einem einheitlichen großen Gebilde und geringen Resten. Bei dem einen Typus enthält der Nucleolus in seinem Innern eine große Blase (Fig. 3, 4, 10, Taf. XXIII) und man sieht oft in dieser ein chromatisches Reticulum, das ganz einem Kernnetze gleicht (Fig. 18 und 16, die Zelle links, auch in Fig. 10 erkennbar). Wir werden auf einem viel späteren

Stadium (nämlich der Bildung des vorletzten Nucleolus vor der Reifespindel (Fig. 51, 52, Taf. XXIV) erkennen können, worauf dies zurückzuführen ist. Um diese große Vacuole herum liegt eine beträchtliche Anzahl kleinerer Bläschen, die, je nach Menge der vorhandenen chromatisch sich tingierenden Bestandteile, bald vacuolär, bald granulös aussehen. Die Fig. 5, 6, 7, 8 und 9 zeigen uns, wie Nucleolen des eben besprochenen Typus Teile abschnüren und sich zerlegen. Bei den Nucleolen der Fig. 6 und 7 wird wohl die große Vacuole geplatzt sein, und dadurch sind die umliegenden Bläschen und Körner frei zu liegen gekommen. Eine von der vorigen etwas verschiedene Gestalt besitzen die Nucleolen der Fig. 11 und 12; diese wurden offenbar nach einem ein wenig abweichenden Vorgange gebildet, wie wir ihn auf einem späteren Stadium, der Bildung des letzten Nucleolus vor der Reifespindel (Fig. 59, 60, 61, Taf. XXIV, vgl. auch S. 324), erkennen werden. Die Fig. 13 und 14 geben wohl durch Zerfall von Nucleolen der letzten Art entstandene Bilder wieder.

Das im Kern suspendierte Chromatin liegt besonders in Nähe der Kernmembran angehäuft und zu dieser ziehen vom Nucleolus (Fig. 10, 11, 12) mehr oder minder färbbare Fasern, an welchen derselbe gleichsam aufgehängt erscheint. Diese Fasern bleiben ebenfalls sichtbar, wenn der Nucleolus sich schon zerstückelte (Fig. 5, 8, 13, 14). Die eigentliche Kernstruktur, die auch an besonders vorteilhaft fixiertem Material und in den späteren Stadien, in denen die Kernstrukturen viel dichter geworden sind, direkt erkennbar ist, wird man vielleicht folgendermaßen ausdrücken können: Die Kerngrundsubstanz bildet ein Schaum- oder Wabenwerk. Die Chromatinkörnchen liegen in den Wabenwänden, zumeist in den Wabenecken und verteilen sich besonders an der Kernmembran, die selber durch die letzten, wohl besonders stark imprägnierten Wabenwände dargestellt sein dürfte (man vergleiche hierzu das viel spätere Stadium der Fig. 51, Taf. XXIV, bei welcher auf der Kernmembran ein deutliches Wabenwerk zu sehen ist). Ungefähr in der Mitte des Kernes befindet sich der Nucleolus. Diejenigen Wabenwände, welche gerade besonders viel tingierbare Bestandteile enthalten, treten im Bilde deutlicher, ja vielfach allein hervor, und diese stellen infolgedessen das sogenannte chromatische Kerngerüst dar, in welchem der Nucleolus, gleichsam wie in einem Spinngewebe, aufgehängt erscheint.

Es fragt sich nun, was liefert der Nucleolus bei seinem Zerfall. Hierüber geben uns schon die Fig. 16, in der Zelle rechts, und Fig. 17 auf Taf. XXIII Aufschluß, und spätere Stadien der Ovogenese werden uns keinen Zweifel mehr darüber lassen können. In Fig. 16 entspringt von dem Nucleolus der rechts liegenden Zelle strahlenartig eine Menge chromatischer Körner.

Der Rest des nur mehr blaß gefärbten Nucleolus ist noch vorhanden. In Fig. 17 ist auch ein solcher vollständig verschwunden und an seiner Stelle liegt eine Menge intensiv sich färbender chromatischer Körner, die sich übrigens von den auf dem Kernnetze liegenden durch ihre viel regelmäßigere Gestalt unterscheiden. Also schon aus diesen Befunden kann man schließen, daß aus dem Nucleolus Chromatin entsteht und die Bildung von solchem wohl seine Aufgabe sein wird.

Was geschieht nun weiter, wenn der Nucleolus sich ganz aufgelöst hat? Das beantwortet uns auch schon in dieser Periode, die der Verschmelzung vorangeht, der interessante Zellkern, den die Fig. 19, Taf. XXIII, darstellt. In ihm finden wir den alten Nucleolus verschwunden und statt seiner eine große Zahl chromatischer Körner, inmitten dieser bildet sich ein winziger, rötlich sich färbender Nucleolus aufs neue. Den homologen Prozeß werden wir im Verlaufe der Ovogenese sehr oft näher verfolgen können.

Die Verschmelzungsperiode bestätigt uns die obigen Befunde in vielleicht noch präziserer Form. Bei jeder Verschmelzung, also Aufgabe der Selbständigkeit des Kernes, zerfällt der Nucleolus. Diese Tatsache zeigt uns, daß der Nucleolus das empfindlichste und individuellste Zellorgan ist, welches bei Änderung des Zustandes des Kernes, unter dem es gerade arbeitete, bei Dezentralisierung der Kerntätigkeit, wie eine solche durch Verschmelzung notwendig herbeigeführt wird, seine Funktion sofort einstellen muß. Eine solche Empfindlichkeit kann wiederum allein einem sehr aktiven Organe zukommen. In Fig. 63 und 64, Taf. XXV, besitzen die zwei Kerne rechts, die gerade nur zu verschmelzen beginnen, noch ihre Nucleolen, dagegen lösen sich im Kerne links, der aus Verschmelzung soeben hervorging, die Nucleolen auf, und man sieht an ihrer Stelle, außer größeren, noch nicht zerfallenen Bruchteilen, eine Menge intensiv färbbarer, chromatischer Kügelchen (Fig. 20 und 21 auf Taf. XXIII, die den Kern stärker vergrößern und zwei optische Ebenen durch denselben Schnitt darstellen). Desgleichen ist der Nucleolus aufgelöst bei dem über dem letzteren gelegenen Kern (Fig. 21, Taf. XXIII), der wohl auch schon durch Vereinigung von zweien gebildet wurde, ja schon in dem oberhalb dieses letzteren (in Fig. 63, Taf. XXV) gelegenen kleinen Kerne hat sich der Nucleolus total zerstückelt, wie Fig. 22 auf Taf. XXIII zeigt.

In Fig. 25, Taf. XXIII, die den Schnitt der Fig. 70, Taf. XXV, der oben besprochenen Gruppe stärker vergrößert, sehen wir in dem großen Kerne links den Nucleolus in mehrere Stücke zerfallen und um diese, ihnen teilweise noch angelagert, regelmäßig konturierte, chromatische Körner, die daraus gebildet wurden. Im Kerne rechts in der Gruppe ist der Nu-

cleolus so gut wie vollständig zerstückelt und seine Bruchteile verteilen sich auf die Kernnetze. In dem mittleren oberen Kerne ist von dem ursprünglichen Kernnetze gar nichts mehr zu sehen und nur die Nucleolenteile treten hervor. In dem oberen Kerne der Textfig. 7 und 8 ist der Nucleolus ebenfalls zerfallen, während er in den zwei darunter gelegenen Kernen (Textfig. 9 und 10) eine verklumpte Masse vorstellt, die nichts mehr von einer nucleolären Struktur besitzt und später zerfallen wird, wie der vierte Kern der Gruppe, von dem ein Schnitt in Fig. 29, Taf. XXIII, genauer dargestellt ist, uns zeigt. Dasselbe gilt für die Nucleolen der Textfig. 3, 4, 5, welche in der Fig. 26, Taf. XXIII, nochmals dargestellt sind. Nach Fig. 31, Taf. XXIII, zerfließen teilweise solche Gebilde.

Wenn zwischen einer Verschmelzung bis zur nächstfolgenden einem Kerne etwas Ruhezeit bleibt, so bildet er sofort wieder einen neuen Nucleolus, wie der Kern der Textfig. 6 zeigt, dessen Struktur auf Fig. 27 und 28, Taf. XXIII (aufeinanderfolgende Schnitte), präziser wiedergegeben ist. Auf der ersten dieser zwei Figuren sehen wir, wie ein junger Nucleolus mit großer, innerer Vacuole, um die erst nur wenige, substanzarme Bläschen angeordnet sind, gebildet wird, während auf dem nachfolgenden Schnitte ersichtlich ist, wie die früheren Nucleolen sich zu einem Geflechte aufgelöst haben. Desgleichen können auch alle riesigen, zerklumpten oder zerfallenden Nucleolenreste der Fig. 26, 31, 25, Taf. XXIII, nur von nach Verschmelzung neu entstandenen Nucleolen herrühren, wie ein solcher durch den Nucleolus der Fig. 24, Taf. XXIII, offenbar dargestellt wird (in Fig. 23, der nächste Schnitt von Fig. 24, sind noch Reste der alten Nucleolen zu sehen).

Die durch Zerfall der Nucleolen frei gewordenen chromatischen Substanzen verteilen sich zu einem Netzwerk und man findet sie oft zwischen den Teilchen der alten Struktur, durch ihre regelmäßigere Form und bessere Färbbarkeit erkennbar, während die Elemente der früheren Struktur unregelmäßig konturiert sind und einen mehr korrodierten Charakter aufweisen (Fig. 23, Taf. XXIII). Jedoch zerfällt einerseits das alte Chromatingerüst, und zwar entstehen aus den größeren Schüppchen und ihren Ansammlungen feine Fasern, die sich durch den ganzen Kern verbreiten (ebenfalls die gleiche Fig. 23). (Wir werden in der nächsten Periode, bei Anwachsen der Zellelemente erkennen können, daß diese Fasern aus aneinander gereihten Körnchen oder Bläschen (Fig. 45, Taf. XXIV) zusammengesetzt sind und den ganzen Prozeß genauer verfolgen können.) Es wird somit ein dichteres und ein feineres chromatisches Kerngerüst wahrnehmbar, ein Unterschied, welcher naturgemäß auch auf den früheren Stadien

vorhanden sein mußte, jedoch der Kleinheit der Elemente wegen noch nicht so leicht erkennbar war.

In dem unteren Kerne auf Fig. 26, Taf. XXIII, (Textfig. 4 und 5) ist eine spontane Umwandlung des größten Teiles der gröberen Kernstruktur in die feinere eingetreten und man sieht die hierdurch entstandenen Fasern dicht verstrickt gegen den oberen Kern gelagert. Bemerkenswert ist, daß nur diejenige Partie des Kernes, welche durch den vor der Verschmelzung links gelegenen Teil hergestellt wird, diese Umwandlung zeigt, während der andre Teil, der aus dem rechten Kerne entstanden ist, von dieser plötzlichen Veränderung nicht berührt wird. Die Sache ist an und für sich leicht erklärlich, denn jeder Kern hatte vor der Verschmelzung seine besondere Entstehungsgeschichte, von der er auch nach derselben physiologisch noch abhängen muß, und es hätte einen kolossalen Zufall gebraucht, besonders bei den intensiven Veränderungen in der Verschmelzungsperiode, wenn die beiden Kerne zu derselben Zeit gerade in dem genau gleichen Stadium hätten sein sollen. Diese, nach der Verschmelzung noch eine gewisse Zeit andauernde Selbständigkeit der Stoffe der einzelnen Kerne, sodaß durch die bloße Verschmelzung nicht eine neue Einheit und Kernindividualität entsteht, sondern diese erst langsam gebildet werden muß, werde ich im allgemeinen Teile, bei Besprechung der Verschmelzung noch durch andre Befunde erläutern können.

Die neue großkörnige chromatische Struktur, welche aus dem Nucleolus entstanden ist, wird natürlich dasselbe Schicksal haben, wie ihre Vorgängerin, und später ebenfalls zu einer feineren zerfallen, denn bei jeder neuen Verschmelzung geht dieser Prozeß vor sich, und so folgen denn mit den Verschmelzungen einerseits die Nucleolengenerationen aufeinander, anderseits die Generationen der dichten und weiter diejenigen der feinen chromatischen Geflechte, sodaß jedesmal die eine Phase aus der nächst höheren Phase der vorhergehenden Generation entsteht. So bilden also nach einer Verschmelzung die Nucleolen der zusammengeflossenen Kerne die dichte chromatische Struktur des neuen Kernes, ihre dichte chromatische Struktur das feine chromatische Geflecht. Was nun das letztere anbetrifft, so will ich gleich einer besseren Übersicht wegen vorausgreifen, daß dieses in die Bildung des neuen Nucleolus eingeht (wie wir bei der Entstehung des vorletzten Nucleolus vor der Reifeteilung, Fig. 51 und 52, Taf. XXIV, genau werden verfolgen können), sodaß der ganze Umbildungsprozeß cyklisch verläuft.

Durch die Vereinigung der Substanzen vieler Kerne zu einem einzigen, und vielleicht auch durch nebenbei verlaufende Neubildungen von Kernstoffen, wird die Struktur der Kerne, bei zunehmender Verschmel-

zung immer dichter und reicher an chromatischen Bestandteilen. Die Fig. 29 auf Taf. XXIII zeigt den Kern der Textfig. 11 (ein andrer Schnitt) stärker vergrößert und man erkennt in ihm ein reichliches Flechtwerk feiner chromatischer Fasern mit sehr viel dichtem chromatischem Gerüst und eine Menge großer chromatischer Schollen, die von Nucleolen herrühren.

Im einzigen Kerne der Gruppe der Textfig. 12, von der Fig. 30 auf Taf. XXIII einen Schnitt wiedergibt, findet man, bei Durchsicht der Serie viele Reste von verschiedenen Nucleolen und die ganze, innere Kernkonfiguration zeigt aufs deutlichste, daß es noch zu keiner einheitlichen Kernstruktur gekommen ist (vgl. z. B. mit dem späteren Stadium auf Fig. 43, Taf. XXIV).

Nachdem sämtliche Kerne sich vereinigt haben, rundet sich der Verschmelzungskomplex ziemlich ab, und tritt aus dem Verband der ihn umgebenden Zellen heraus, dem er noch eine zeitlang anliegen kann (Fig. 63, Taf. XXV, Fig. 65—68, Taf. XXV, Fig. 32, Taf. XXIII, und die Textfiguren auf S. 311). Die andern Zellen schließen wieder zusammen, um so wiederum eine neue Verschmelzungsgruppe geben zu können.

Der eben besprochene Verschmelzungsprozeß, daß sofort eine Menge zentral gelegener Zellen inmitten eines größeren Komplexes verschmilzt, um dann später noch weiter die am Rande gelegenen Zellen einzubeziehen, ist der typische und weitaus häufigste, der stets eintritt, wenn viel Zellen vorhanden sind. Nun gibt es aber manchmal Partien im Ovar, bei denen dasselbe zwischen andern Organen nur als ein dünner Strang sich durchziehen kann, oder wo, nach einer beendeten Verschmelzung, nur noch wenige Zellen übrig bleiben. In solchen Fällen können nicht auf einmal viele Zellen sich vereinigen, da nur wenige zusammenstoßen, sondern es verschmilzt eine geringe Zahl, oftmals zuerst gar nur zwei — es sind selbstverständlich alle Kombinationen möglich — die dann einen einheitlichen Kern bilden, darauf wiederum eine oder zwei Zellen einbeziehen, wonach diese Kerne mit den andern verschmelzen usw. Es liegt darin kein wichtiger Unterschied mit der andern Verschmelzungsart und die Abweichung ist nur in den Bedingungen des Quantums und der Verteilung der Zellen gegeben. Um nicht die Figuren unnötig zu vermehren, habe ich es unterlassen, von diesem an und für sich ganz selbstverständlichen Vorgang Abbildungen zu geben.

Fassen wir die Resultate der Beobachtung der chromatischen Veränderungen während der ersten Wachstumsperiode und der Verschmelzungsperiode kurz zusammen, so ergibt sich, daß der Nucleolus größere, dichtere, intensiv färbbare chromatische Körner oder Bläschen aus sich

entstehen läßt. Es ist klar, daß die Abgabe dieser Substanzen nicht an den vollständigen Zerfall des Nucleolus gebunden ist, sondern daß er reife Chromatinkörner bei ruhigem Fortbestehen und Weiterfunktion fortwährend an den Kern abgibt; so zeigt z. B. Fig. 4, Taf. XXIII, wie der Nucleolus einen Chromatinteil abgeschnürt hat, ohne im geringsten dabei zu zerfallen, und um die Nucleolen finden wir recht oft sehr regelmäßige Chromatinkörnchen, die höchstwahrscheinlich aus ihm entstanden sind. An vielen Drüsenzellen läßt sich diese stetige Chromatinabgabe ganz eindeutig verfolgen. Jedoch tritt eben bei Zerfall des Nucleolus seine Tätigkeit ganz besonders augenfällig zutage. Diese aus dem Nucleolus entstandenen, dichten Chromatinkörner werden im Kerne verteilt und zerfallen selbst wieder zu kleineren Körnchen oder Bläschen, die zu feinen Fasern (Wabenwänden) gruppiert, sich weiter ausbreiten. Falls der Nucleolus zerfallen war, bildet sich wiederum ein neuer.

Alle diese Prozesse werden wir in der nächsten Periode durch viel deutlichere Strukturen bestätigt finden. Dieselbe können wir, zur Unterscheidung von der kurzen Wachstumsperiode der Ovocyten vor der Verschmelzung, als die zweite Wachstumsperiode bezeichnen. In dieser wächst das Ei vor der Dotterbildung noch um ein vielfaches heran (vgl. Fig. 63, Taf. XXV, mit Fig. 71 derselben Tafel) und wird auch während der Dotterbildung noch stark vergrößert.

Zu Ende der Verschmelzung zeigte das Keimbläschen eine ziemliche Wirrnis in seiner Struktur und enthielt eine Menge großer chromatischer Schollen als Reste von zerstückelten Nucleolen (Fig. 30, Taf. XXIII). Diese Schollen geben nun Chromatinkörnern Entstehung, die sich ziemlich regelmäßig auf dem Kerngerüste verteilen und ein sehr dichtes chromatisches Geflecht ergeben. Zugleich hat sich wiederum ein neuer Nucleolus gebildet (Fig. 43, Taf. XXIV).

In der nächsten Etappe (Fig. 44, Taf. XXIV) finden wir den Kern etwas vergrößert, wie auch das Ei um ein beträchtliches Stück gewachsen ist (vgl. Fig. 65, Taf. XXV, mit Fig. 63, Taf. XXV). Das Kerngerüst dagegen ist ein viel spärlicheres geworden. Es sind nur mehr wenige dichtere chromatische Körnchen vorhanden, dafür viel feine Fädchen, die aus aneinander gereihten kleineren Bläschen zusammengesetzt sind. Der Nucleolus weist einen stark chromatischen Teil auf, welcher, wie der ganze Nucleolus des vorhergehenden Stadiums, aus einer Reihe von dichten Körnern und Bläschen besteht, die um eine hellere Vacuole gelagert sind. Diese Partie liegt polar einem viel größeren, schwächer färbbaren Gebilde aufgelagert (Fig. 35, Taf. XXIII). Eine Erklärung dieser Struktur werde ich im allgemeinen Teile versuchen.

Die Umwandlung des Chromatins ist im folgenden Stadium (Fig. 45, Taf. XXIV) noch weiter vorgeschritten und wir finden dort gar keine Chromatinkörner der früheren, dichten Struktur mehr, sondern nur die kleinsten Bläschen, die sich optisch zu mehr oder weniger unterbrochenen Fädchen auf dem Kernnetze gruppieren. Zur Bildung einer neuen Chromatingeneration gibt der Nucleolus sein Chromatin an den Kern ab, um nachträglich vollständig zu zerfallen. In oben zitierter Figur sehen wir, wie in der polaren, dichteren Partie des Nucleolus die einzelnen Bläschen sich von einander lockern und aus dem Verbande austreten (noch besser auf dem nächsten Schnitt durch den Nucleolus sichtbar, Fig. 46, Taf. XXIV). Zu einem sehr großen Teile haben sie sich schon in dem Kernnetze verbreitet. Die zweite Partie des Nucleolus ist aber ebenfalls sehr chromatisch geworden, wenn auch etwas schwächer wie die andre, und auch sie beginnt mit der Abgabe ihrer färbbaren Stoffe, wie man an dem unteren Teile des Nucleolus in der Fig. 45 und 46 leicht ersehen kann. (Ein ganzes Ei dieses Stadiums ist bei halber Vergrößerung, wie Fig. 45, in Fig. 73, Taf. XXV, wiedergegeben.)

Diese Chromatinausscheidung schreitet nun weiter fort, sodaß in der nächsten Epoche (Fig. 47, Taf. XXIV) von dem Nucleolus nur mehr eine große, scharf umschriebene, ungefärbte Kugel zurückbleibt. Alles Chromatin hat sich in Gestalt größerer, regelmäßiger Kugeln und Körner auf dem Kernnetze ausgebreitet und nur ein geringer Teil haftet dem Restkörper an als ein gelockerter chromatischer Knäuel.

Bei dem nächsten Stadium, welches die Fig. 48 und 49, Taf. XXIV, in aufeinanderfolgenden Schnitten wiedergeben, finden wir die ungefärbte Kugel völlig frei (Fig. 48) und daneben (Fig. 49) zwei Gebilde aus kleinsten chromatischen Bläschen, wie solche durch die letzte Umbildung des Chromatins im Kernnetze entstehen (vgl. S. 318). Dieselben entsprechen offenbar dem weiter umgebildeten chromatischen Knäuel der Fig. 47.

Die Chromatinverminderung in dieser Wachstumsperiode steht wahrscheinlich mit den Vorgängen im Plasma im Zusammenhang und dürfte vielleicht durch diese direkt begründet sein.

Gleich zu Beginn der Wachstumsperiode, sobald sich die Struktur des Keimbläschens geordnet hat, und ein Nucleolus sich gebildet, sehen wir, wie um den Kern eine plasmatische Zone sich abzuscheiden beginnt, die eine viel regelmäßigere, wabige Struktur aufweist, wie das übrige Plasma, das durch Verschmelzung der Ovocyten entstanden war und einen mehr zerfaserten Eindruck macht. Außerdem unterscheidet sich die um den Kern gelegene Partie in der Färbung von der peripheren (Fig. 63, Taf. XXV, und Fig. 43, Taf. XXIV). Diese centrale Zone wächst nun immer

mehr heran, das alte Plasma vor sich herdrängend (Fig. 32, Taf. XXIII, Fig. 65 und 71, Taf. XXV). Ich will diese Zone um den Kern als Wachstumszone bezeichnen, da sie offenbar einen Zuwachs und eine Neubildung an plasmatischen Stoffen darstellt.

Der oben beschriebene Strukturunterschied zwischen der centralen Plasmapartie und der peripheren, das Fehlen eines innigen Zusammenhanges zwischen beiden, bringt es mit sich, daß oft bei Fixation diese zwei Teile sich von einander trennen und eine Kluft zwischen ihnen entsteht (Fig. 43, Taf. XXIV, Fig. 65, Taf. XXV, und Fig. 32, Taf. XXIII), aber auch bei der für Plasmastrukturen besten Fixation, bei der absolut kein Abreißen stattfindet (z. B. Fig. 71, Taf. XXV), ist die centrale Zone scharf umschrieben und augenfällig von der andern zu erkennen.

Kurz vor der Dotterbildung sehen wir, wie die Wachstumszone mit einer Unmenge regelmäßig konturierter, kugeliger Körnchen angefüllt wird, die sich mit Karmin nach Mayer intensiv und durchsichtig rot tingieren (Fig. 71, Taf. XXV), mit Hämalaun-Eosin ebenfalls rot (Fig. 72, Taf. XXV) und mit Safranin-Gentiana-Lichtgrün leuchtend grün. Durch Eisenhämatoxylin werden sie zum Unterschiede des reifen Dotters, der intensiv schwarz wird, nicht gefärbt.

Gleichzeitig mit der weiteren Vergrößerung der Wachstumszone füllen diese Körnchen, das periphere Plasma zu einer immer dünner werdenden Schicht zusammendrängend, den weitaus größten Teil des Eies an (Fig. 72, Taf. XXV). (Diese plasmatische Zone ist manchmal auch im fixierten Präparate noch so regelmäßig, daß dieKörnchen wie auf Strahlen angeordnet erscheinen.) Die ersten größeren Körnchen, welche dann sicher als Dotterkörnchen anzusprechen sind, bilden sich stets am äußersten Rande. Da nun optisch eine kontinuierliche Reihe zwischen den großen Dotterkörnchen, die peripher in dem Ei gelagert sind, bis zu den kleinen Körnern um den Kern besteht, ist es schwer zu sagen, ob diese letzteren sich direkt in die Dotterkügelchen verwandeln oder noch aufgelöst werden, während die Dotterkügelchen entstehen. Die Bilder dieser Stadien würden das erstere wahrscheinlich machen (der Unterschied in der Färbbarkeit mit Eisenhämatoxylin würde dann nur in einer chemischen Änderung der kleinen Körnchen zum fertigen Dotter gegeben sein, was ja sowieso etwas sehr Naheliegendes wäre). Doch läßt sich eine absolute Sicherheit hierin nicht erzielen; daß aber diese Körnchen, die in der Wachstumszone direkt zum Beginn der Dotterbildung erscheinen, mit letzterer in unmittelbarem physiologischem Zusammenhange stehen müssen, ist ohne Zweifel.

Die Dotterbildung schreitet sodann, unter Aufbrauch der plasmatischen Substanzen vom Rande aus gegen den Kern weiter, sodaß in mittleren Stadien derselben (z. B. bei Auflösung des ersten Keimbläschennucleolus) eine Zone zu unterscheiden ist, die noch weniger davon berührt wird (Fig. 73, Taf. XXV, und Fig. 48, Taf. XXIV). Diese Zone, die zumeist bei der Fixation abreißt, da sie zum Unterschiede der Randpartie noch dichteres Plasma besitzt, ist selbstverständlich zu unterscheiden von der Wachstumszone jüngerer Stadien, wie z. B. auf Fig. 65, Taf. XXV. Sie stellt natürlich nur mehr einen geringen Teil der ganzen Wachstumszone dar, es sei denn der Fall, daß es sich sogar um eine in der Zwischenzeit neu gebildete Partie handeln sollte.

In weiteren Stadien, z. B. der Neubildung des zweiten Keimbläschennucleolus (Fig. 51, Taf. XXIV, und Fig. 74, Taf. XXV), ist die Dotterbildung so weit vorgeschritten, daß alles Plasma bis zur Kernmembran sich umwandelt. Die Dotterkörnchen wachsen noch weiter heran, bis fast gar nichts mehr von dem Plasma, wie ganz spärliche, kaum sichtbare Reste übrig bleiben, denen keine große Bedeutung mehr zukommen kann. Dieser Prozeß ist bis zum Verfall des zweiten Keimbläschennucleolus vollständig beendet (vgl. Fig. 88 und 89, Taf. XXVII), sodaß man sagen kann, daß auf diesem Stadium sich alle außerhalb des Kernes gelegenen Substanzen bis auf ganz geringe Spuren, die um die Dotterkörnchen verlaufen, sich in deutoplasmatische Stoffe verwandelt haben und außerhalb des Kernes keine Veränderung mehr stattfinden kann, bis der Dotter wieder aufgelöst werden wird.

Kehren wir nun, nachdem wir das Plasma erledigt haben, zu dem Kerne zurück. Die letzte Periode endete mit dem Verfall des Nucleolus; es wird nun die Aufgabe des Kernes sein müssen, wiederum einen neuen zu bilden, der also zum zweiten Keimbläschennucleolus wird. Dieser Prozeß läßt sich nunmehr auf diesem Stadium, der Größe und der Übersichtlichkeit der Elemente wegen, leicht verfolgen und ist geeignet, uns in morphologischer Beziehung vollständige Klarheit über die Entstehung des Nucleolus zu verschaffen.

In Fig. 51, Taf. XXIV, sieht man, wie das Kernnetz unter Strahlung zusammengezogen ist (dieselbe ist bei schwächerer Vergrößerung, da man dann mehr optische Schichten zugleich überblickt, noch viel auffälliger) und im Mittelpunkte dicht zusammengepreßt, ohne aber von seiner retikulären Struktur etwas einzubüßen. Dieser, im fixierten Präparate verdichtete Teil des Kernnetzes stellt den neuen Nucleolus dar. (Eine ausführlichere Deutung des Vorganges werde ich im allgemeinen Teile geben.) Nun wird auch auf einmal verständlich, was in ihrer Entstehungsweise,

ja in ihrem Wesen selbst begründet wird, warum die jungen Nucleolen in ihrem Innern ein Kernnetz aufweisen, und umgekehrt ist dieses Vorhandensein eines Kernreticulums für die Nucleolen der verschiedenen Generationen ein Beweis, daß sie alle aus einem Teil des Kernnetzes entstanden sind, wiewohl man auch a priori annehmen wird, daß sie sämtlich eine prinzipiell einheitliche Bildungsweise haben werden. Als Vergleich habe ich in Fig. 51a, Taf. XXIV, unter gleicher Vergrößerung eine Ovocyte wiedergegeben, deren Nucleolus auf ungefähr dem entsprechenden Stadium (nur ein wenig mehr vorgeschritten) wie derjenige der Fig. 51 steht.

Da wir nun aus den vorhergehenden Kapiteln erkennen konnten, daß das aus dem Nucleolus entstandene Chromatin durch seinen Zerfall das Kernreticulum liefert (feinste Fasern mit den kleinsten chromatischen Bläschen) und wir nunmehr dieses Kernreticulum in die Bildung des Nucleolus eingehen sehen, so ergibt sich, daß die chromatischen Umwandlungen durch den Nucleolus wieder rückläufig gemacht werden, wie ich oben bei der Durchnahme der chromatischen Veränderungen im Kerne anführte.

So jung aber auch der Nucleolus der Fig. 51 sein muß, so hat er doch schon seine Tätigkeit begonnen, indem er nach dem einen Pole, allerdings noch recht wenige blaßfärbbare, chromatische Vacuolen abschied (in Fig. 50 ist der vorhergehende Nucleolusanschnitt, der diesen dünnen Saum zeigt, wiedergegeben), während sein größter Teil, nach der andern Richtung gegen den Kern noch vollständig frei ist (Fig. 52, welche den auf Fig. 51 folgenden Schnitt zeigt).

Bezüglich der Fig. 51 muß ich folgende Berichtigung geben: die kleinen Körnchen auf dem Kernnetze wurden mit dem Zeichenapparat eingezeichnet. Um den Faserverlauf der Strahlung verfolgen zu können, mußte bei der starken Vergrößerung die Mikrometerschraube verändert werden und hierdurch wurden die Körnchen mehrerer optischer Schichten eingezeichnet, sodaß die Struktur im Kerne zu dicht ist. Die folgende Fig. 52, bei deren Zeichnung die Mikrometerschraube nicht verstellt wurde, gibt für das Kerngerüst die richtigen Verhältnisse.

Die Entwicklung des Nucleolus geschieht, indem er immer mehr chromatische Vacuolen abscheidet, sodaß die polare Schicht derselben sowohl an Breite wie an Umfang zunimmt, wie Fig. 53, Taf. XXIV, darstellt. Zugleich umgreift sie, an Dicke gegen die eine Seite stark abnehmend, den ganzen Nucleolus, sodaß sein Gerüstwerk membranartig durch sie gegen dasjenige des Kernes abgeschlossen wird, wahrscheinlich aber ohne dadurch den Zusammenhang mit letzterem aufzugeben. (Daß ein Teil

der großen Vacuole im Nucleolus den chromatischen Saum etwas vorwölbt, während dafür ein Teil des Kernreticulums sich einstülpt, wird wohl durch eine Strömung bei der Fixation erfolgt sein. Es macht uns aber gerade das zuletzt besprochene plausibler. Im allgemeinen Teile werde ich auf diese Frage noch näher eingehen.) Auf Fig. 54, Taf. XXIV, ist die Bildungstätigkeit weiter fortgeschritten und der ganze Nucleolus ist jetzt von einer dickeren Schicht von chromatischen Vacuolen umgeben, während durch die Bildung derselben die innere Vacuole verkleinert wurde. (Einen ganzen Kern in diesem Stadium gibt bei halber Vergrößerung Fig. 74, Taf. XXV, wieder.)

Endlich stellt Fig. 55, Taf. XXIV, (Karmin nach Mayer) einen reifen Nucleolus dar. Die innere Vacuole ist hier völlig zurückgebildet und der ganze Nucleolus in intensiv chromatische Vacuolen abgeteilt, von denen besonders ein polargelegener Teil so dicht imprägniert wurde, daß sie sich in völlig kompakt aussehende Körner verwandelten. Mit Eisenhämatoxylin färbt sich solch ein Nucleolus undurchsichtig schwarz und man kann eine weitere Struktur an diesen Präparaten nicht mehr erkennen (Fig. 86, Taf. XXVII). Das Kernnetz ist auf diesem Stadium vollständig frei von Resten dichterer chromatischer Struktur oder gar von solchen des alten Nucleolus, alle sind zu den kleinsten Kügelchen zerfallen und der Kern weist demgemäß ein sehr regelmäßiges Wabenwerk auf, nur von den winzigen chromatischen Bläschen durchsetzt (wie auf Fig. 56, Taf. XXIV und Fig. 86, 88, 89, Taf. XXVII zu ersehen ist). Infolgedessen werden wir nach alldem, was wir schon gesehen haben, erwarten können, daß der Nucleolus sein Chromatin an den Kern abgibt. Dieses tritt auch in der Tat ein, wie die Fig. 56 und 57, Taf. XXIV und die Fig. 87, 88 und 89, Taf. XXVII zeigen, und zwar wird das Chromatin polar aus dem Nucleolus ausgestoßen, teils als unabhängige Körner, welche dann weiter zerfallen (Fig. 88 und 87, die den folgenden Schnitt wiedergibt), teils mehr zusammenhängend, sodaß es aussieht, als entspränge eine lange Schleife dem Nucleolus (Fig. 56, 57, Taf. XXIV, und Fig. 89, Taf. XXVII). Diese Schleife verbreitet sich im Kerne bald mehr spiremartig aussehend (Fig. 89), bald mehr, offenbar durch teilweisen Zerfall, den Eindruck einzelner chromatischer Fäden erweckend (Fig. 90). Sie verschwindet sehr rasch, indem die größeren Bläschen sich in kleinere aufteilen, die wiederum die kleinsten Bläschen der letzten chromatischen Etappe ergeben, wie man es auf Fig. 56, Taf. XXIV, sehen kann. Manchmal erfolgt dieser Zerfall so plötzlich, daß die Schleife unmittelbar nach ihrem Austritt aus dem Nucleolus aufgelöst wird (Fig. 91 und 92, Taf. XXVII). (Mit ähnlichen Vorgängen werden wir es wohl auch bei Fig. 47 und 49, Taf. XXIV, zu tun haben.) An diesen Präparaten kann man

außerdem besonders deutlich erkennen, daß aus dem zerfallenden Chromatin nicht allein die kleinsten Bläschen, welche auf den Vacuolenwänden liegen, entstehen, sondern auch die Vacuolen selbst. Während wir also bei der Bildung des Nucleolus eine Mitverwendung, einen Verbrauch an Grundwabenwerk hatten, finden wir hier eine Neubildung von solchem.

An Stelle des Nucleolus bleibt eine scharf umschriebene, unfärbbare Kugel zurück, wie eine solche auch beim Zerfall des Nucleolus des letzten Stadiums entstand. Auf einigen seltenen Bildern, wie z. B. auf Fig. 92, Taf. XXVII, kann man erkennen, daß diese nicht aus einer total homogenen Masse besteht, sondern aus einzelnen Bläschen oder Kügelchen, die allerdings unter sich vollständig gleichartig sind und frei von jeglicher Inkrustation, auch den Zusammenhang mit dem Kernnetz völlig verloren haben. Diese Kugel wird, wie ich beobachten konnte, aus dem Kerne ausgestoßen. Möglicherweise kann sie auch in andern Fällen im Kerne aufgelöst werden, wofür ich jedoch keine Bilder vorfand.

Da das Chromatin, welches der Nucleolus abgegeben hatte, einem sofortigen Zerfalle anheimfiel, erhalten wir demgemäß als nächstes Stadium Kerne, in denen außer dem Grundwabenwerk mit den kleinsten Bläschen absolut nichts mehr zu erkennen ist, wie Fig. 58, Taf. XXIV, einen solchen Kern wiedergibt. Dieses Grundwabenwerk ist ziemlich dicht und mit den Chromatinbläschen letzter Etappe stark beladen, wie es nach Auflösung der großen Chromatinmenge zu erwarten ist.

Der dritte und nunmehr letzte Keimbläschennucleolus baut sich etwas abweichend von seinen beiden Vorgängern auf. Der Grund hierzu könnte wohl in dem verschiedenen Zustande des Kernreticulums, nämlich seiner größeren Dichte gegeben sein. Das Kernnetz wird nicht nach einem einzigen Punkte zusammengezogen, sondern nach mehreren zugleich und gibt auf diese Weise Entstehung mehrerer Teilnucleolen, die ein jeder die Gestalt eines selbständigen Nucleolus aufweisen (Fig. 60 und Fig. 59, Taf. XXIV, welche die beiden vorhergehenden Schnitte der Fig. 60 wiedergibt). Diese Teilnucleolen entwickeln sich aber in demselben Kernbezirke, der in den beobachteten Fällen immer etwas peripher lag, und bleiben bis zu ihrer Reife zusammen, einen traubenförmigen Gesamtnucleolus bildend, der also als zusammengesetzter Nucleolus eine andre morphologische Wertigkeit wie die Nucleolen der beiden vorhergehenden Perioden hat.

In Fig. 60, Taf. XXIV, ist der Nucleolus in seiner ersten Anlage begriffen, an zwei Stellen sieht nur das Reticulum wie verdichtet aus, ohne schon zu einem Nucleolus abgegrenzt zu sein, die bereits differenzierten Teilnucleolen haben nur wenig Chromatin gebildet. Dagegen ist in Fig. 61,

Taf. XXIV, die Entwicklung schon weiter vorgeschritten; wir sehen auf dieser Figur, wie jeder Nucleolusteil central seine große, helle Vacuole besitzt, ringsherum den Saum stark chromatischer Bläschen, ein jeder also einem ganzen Nucleolus, wie z. B. in der Fig. 43, Taf. XXIV, entspricht.

Daß diesem Unterschiede zwischen den letzten und den beiden ersten Keimbläschennucleolen kein besondrer Wert zukommen würde, sondern daß derselbe lediglich durch die verschiedenen Bedingungen (Anreicherung des Bildungsmaterials), unter denen sie entstehen, hervorgerufen sein dürfte, würden uns die Befunde bei den Ovocyten vor der Verschmelzungsperiode wahrscheinlich machen. Bei diesen finden wir in derselben Periode nebeneinander die zwei Formen von Nucleolen, sowohl die einfachen (Fig. 3, 4, 10, Taf. XXIII), wie die zusammengesetzten (Fig. 11 und 12, Taf. XXIII). Besonders der noch nicht reife Nucleolus der Fig. 11, bei dem jeder Teil innen die große Vacuole zeigt, sieht demjenigen der Fig. 61, Taf. XXIV, äußerst ähnlich. Es kann sich nun bei diesen Ovocyten um keinen Unterschied in der physiologischen Wertigkeit und der Aufgabe der Nucleolen handeln und demgemäß würde dasselbe auch für die Keimbläschennucleolen der verschiedenen Etappen der Fall sein.

Der in Fig. 61, Taf. XXIV, wiedergegebene Nucleolus hat aber noch nicht die definitive Größe erreicht, sondern muß noch weiter heranwachsen, wie aus den Bildern, welche den Zerfall des Nucleolus zeigen, hervorgeht. Doch lagen die Stadien mit größerem, noch unzerfallendem Nucleolus in meinem Materiale nicht vor, was natürlich belanglos ist.

Was die Struktur des Kernes des eben besprochenen Nucleolus-Stadiums anbetrifft, so ist dieselbe so fein, daß man ihr auch bei stärkster Vergrößerung keine besondere Form zuschreiben kann. Der ganze Kern färbt sich bei Hämalaun-Eosinfärbung durchsichtig bläulich und sieht völlig homogen aus.

Dahingegen finden wir in dem nächsten Stadium (Fig. 62, Taf. XXIV) den ganzen Kern angefüllt mit regelmäßig konturierten Kügelchen, die sich intensiv violett färben und dasselbe Aussehen besitzen, wie das aus dem Nucleolus entstandene Chromatin der vorhergehenden Perioden. Nur ist seine Menge (entsprechend der Masse der zerfallenen Nucleolen) so groß, daß es nicht die Gestalt eines den Kern durchziehenden, mehr oder minder dichten Flechtwerkes hat, sondern ganz regelmäßig den Kern anfüllen muß. Von den Teilnucleolen haben die peripher gelegenen ihr Chromatin abgegeben und bestehen nur noch aus einer völlig durchsichtigen, fast ungefärbtenKugel. Es ist naturgemäß, daß die peripher gelegenenen Nucleolen, welche die andern umschlossen, zuerst zerfallen, und aus Analogie mit den vorhergehenden Stadien müssen wir annehmen,

daß dieser Prozeß weiter schreiten wird und die im Stadium der Fig. 62 noch übrig gebliebenen Nucleolen ebenfalls zerfallen werden, zumal in der jüngsten Spindelanlage (Fig. 77 bis 83, Taf. XXVI) keine Spur mehr von ihnen vorhanden ist. Außerdem sehen wir in Fig. 62a, welche die Nucleolengruppe eines andern Kernes darstellt, wie in den centralen Nucleolen das Chromatin sich gelockert hat, was nur durch eine begonnene Entleerung möglich ist.

Die nächsten Stadien, die ich finden konnte, stellen schon die Reifespindel dar, und zwar Fig. 77 bis 83, Taf. XXVI, (aufeinanderfolgende Schnitte) die jüngste Anlage derselben, bei wlecher die Chromosomen noch unausgebildet sind. Über die Veränderungen, welche zwischen dem vorher beobachteten Stadium (Fig. 62, Taf. XXIV) und der Spindelbildung vor sich gehen werden, können wir nur folgendes erschließen: Das dem Nucleolus entstammende Chromatin wird sich zu einem Teile, wie wir in den andern Perioden der Ovogenese gesehen haben, umwandeln und hierdurch schließlich wiederum ein Grundwabenwerk mit den kleinsten Bläschen bilden. In der Tat bestehen die Sphären aus einem Waben- oder Schaumwerke und die Fasern (Wabenwände eines weitmaschigeren Wabenwerkes), welche aus ihm entstehen und in die es kontinuierlich übergeht, weisen aneinandergereiht die winzigen Bläschen auf, die wir bei dem Umbau der Kernprodukte in allen vorhergehenden Perioden erkennen konnten. Ein andrer Teil des Chromatins wird in die Bildung der Chromosomen einbezogen werden.

Die genaue Entstehung der Spindel selbst habe ich leider bisher nicht feststellen können, denn, wie das für diese Bildung wohl immer der Fall ist, sind die Zwischenstadien schwer zu erhalten. Dieser Prozeß muß im Verhältnis zu den andern Vorgängen der Eientwicklung äußerst rasch erfolgen, weswegen man so wenig Chance hat, eine Serie verschiedener Bilder zu erhalten. Dieselben Gründe dürften auch dafür maßgebend sein, daß ich von der Entwicklung und dem Zerfall des letzten Nucleolus so wenig Stadien habe, während man eine Menge Bilder für die Entleerung des zweiten Nucleolus der zweiten Wachstumsperiode und wiederum eine Menge in der Entwicklung fortgeschrittener Reifespindeln findet.

Die gesamte Teilungsfigur der Reifespindel wird bei unserm Objekt ausschließlich von dem Kern geliefert. Sie besteht aus den beiden Sphären, welche durch Umbildung aus den zwei Endteilen des gestreckten Kernes entstanden sein müssen; zwischen diesen verläuft, sie verbindend, einmal die eigentliche Spindel, welche die Chromosomen aufnehmen wird, und rings um dieselbe herum der übriggebliebene, nicht in diese Spindel aufgenommene Teil des Kernplasma, welcher, gröbere Vacuolen liefernd, zu-

gleich mit den Sphären in das Ei auswachsen wird, und den wir als peripheres Kernplasma der Spindel unterscheiden wollen. Dieses periphere Kernplasma ist bei unserm Objekte nicht sehr mächtig entwickelt. Auf Fig. 81 sieht man, wie ein Teil desselben und der centrosphäre in das Ei ausgewachsen ist und gleichsam ein Gitterwerk um die Centralspindel bildet, ferner erkennt man an Fig. 83 sehr schön, wie ein Teil dieser auswachsenden Partie in ihrem Verlauf, oder in einer Strömung bei der Fixation, von einer Gruppe von Dotterkörnchen aufgehalten wird und sich um dieselbe herumschlängelt.

In die Spindel treten keine fertigen Chromosomen ein, sondern diese werden erst in der Spindel ausgebildet. In jungen Spindeln findet man demnach eine Menge deutlich von einander getrennter Chromosomenkörnchen (Chromiolen), welche sich teilweise schon in einzelne Gruppen abzusondern beginnen, wie dieses aus den Fig. 79 und 80 hervorgeht.

In weiter entwickelten Spindeln sehen wir, daß die Chromosomenkörnchen sich nunmehr zu richtigen Chromosomen vereinigt haben, nämlich zu längeren, kompakteren Stäbchen, die stets paarweise nebeneinander liegen, und an denen ihre Zusammensetzung aus einzelnen Körnchen noch deutlich erkennbar ist (Fig. 84.)

An solchen Spindeln kann man auch den Mechanismus der Spindelexpulsion erschließen. Würden beide Centrosphären vollständig gleich arbeiten, so könnte es nie zu einer Ausstoßung der Richtungskörper kommen. Dagegen wächst nur die eine Sphäre von der Spindel weg gegen die Eiperipherie und etwas seitlich, die Spindel also nach der entgegengesetzten Richtung drängend, die andre Sphäre erstreckt sich fast gar nicht gegen die Peripherie, in dieser Richtung nur eine kleine Spitze bildend, die gleichsam als Brecher dazu dienen kann, die Dotterkörnchen beiseite zu schieben und der Bewegung also förderlich ist. Dagegen dehnt sich ihre Hauptmasse der Spindel entlang gegen den Spindeläquator und darüber hinweg aus, sodaß sie in demselben Sinne und Richtung wie die andre Centrosphäre arbeitet und die Tätigkeit beider sich summiert.

Schon von diesem Stadium an beginnt die Auflösung und Nutzbarmachung des Dotters, und zwar geht diese unter dem Einflusse der Spindel vor sich. Man sieht an derjenigen Stelle, wo die eine Centrosphäre am meisten gegen die Peripherie des Eies hinarbeitet, wie die Dotterkörnchen, die sonst überall kugelrund und regelmäßig konturiert bleiben, sich ausbuchten, in die Länge fließen und zerfallen, während um sie herum wie ein blaßgefärbter, weißlicher Schaum entsteht, der nichts als eine Neubildung plasmatischer Substanzen sein kann (Fig. 85, Taf. XXVI).

Von diesem Stadium der Spindel ab erfolgt keine weitere Veränderung des Eies im Muttertiere mehr, sondern es ist nunmehr reif abgelegt zu werden, sodaß also hiermit die Ovogenese abschließt.

Nur eines habe ich noch nachzuholen: Wir hatten oben schon gesehen, daß nach beendigter Verschmelzung das Ei aus dem Ovarialverbande austritt und ihm nur noch eine Zeitlang anliegt; in späteren Stadien befindet es sich jedoch vollständig frei in der Leibeshöhle. Dieses gilt nun unbedingt für die Eier mit reifem Dotter, für die in dem elften Segmente höchstenfalls für zwei Stück Platz vorhanden ist, sodaß in denjenigen Fällen, in welchen noch mehr Eier vorkommen, diese durch die Dissepimente durchbrechen müssen, und in die nächst zurückliegenden Segmente (meist ein Stück in jedes Segment) zu liegen kommen. Ich habe oft vier Eier mit entwickeltem Dotter in den Tieren vorgefunden. Es ist nun interessant, daß, obwohl diese letzteren Eier, der Bildungsweise im Ovar gemäß, unmöglich gleichaltrig sein können, sie dennoch stets auf dem genau gleichen Stadium stehen, was nur durch eine Korrelation des Eies mit dem Muttertiere erklärlich wird. War z. B. in dem einen Ei ein junger (zweiter) Keimbläschennucleolus vorhanden, so stand in allen übrigen der Nucleolus auf demselben Stadium, oder war der Nucleolus in Abgabe seines Chromatins begriffen (wie z. B. in Fig. 89), so galt dies für alle dotterenthaltenden Eier des Tieres. Oder war in dem einen die Reifespindel ausgebildet, so war dies auch für alle andern der Fall, und zwar hatten sämtliche Spindeln den genau gleichen Entwicklungsgrad, entweder Spindel mit unfertigen Chromosomen (wie Fig. 79) oder mit abgeschlossener Chromosomenbildung (wie in Fig. 84).

Diese an und für sich sehr interessante Tatsache war für die Untersuchung der Ovogenese weniger angenehm, da in jedem Tiere, das überhaupt reifere Eier enthält, natürlich immer nur ein einziges Stadium zu finden ist, wenn auch verhältnismäßig noch so viel Eier vorhanden sind.

Auch die Abgabe der Eier kann man ohne eine Korrelation mit dem ganzen Organismus nicht erklären, denn abgesehen davon, daß diese unbedingt nötig ist, damit das Ei auf dem richtigen Stadium abgelegt wird, weder zu früh noch zu spät — sehen die Veränderungen an den Chromosomen, um die es sich nur mehr handelt, doch so unscheinbar aus — ist es anders unbegreiflich, wie die mehrere Segmente zurückliegenden Eier wieder nach vorn durch die Dissepimente hindurchwandern, um die so geringen Öffnungen im elften Segmente zu finden. Daß die großen Eier, wenn einmal dabei angelangt, die enge Genitalöffnung durchpassieren, ist dagegen leicht verständlich, denn wir haben schon gesehen, daß außer den Dotterkügelchen und flüssigen Substanzen nur Spuren kompakterer Stoffe vor-

kommen, sodaß die Dotterkörnchen leicht gegeneinander verschiebbar sein müssen, und die Eier ohne Schaden an jeder beliebigen Stelle stark sich einschnüren lassen. Ein solches Ei kann also dementsprechend überall direkt durchfließen, wo nur die Richtungsspindel, die ihren dichtesten Teil vorstellt, durchkommt. (Durch Dissepimente stark eingeschnürte Eier kann man beim Durchwandern durch dieselben auch öfters sehen.)

Allgemeiner Teil.

I. Zellstrukturen.

a) Chromatine und Grundsubstanzen.

Wir wollen in dieser Arbeit den Begriff »Chromatin« lediglich morphologisch fassen, und zwar morphologisch genetisch, derart, daß wir alle diejenigen Zellteile, welche aus den färbbaren Substanzen der Chromosomen entstehen und in die Bildung derselben als ein Bestandteil eingehen, Chromatin nennen, wenn sie geformt und färbbar sind und so lange sie diese äußerlichen Eigenschaften besitzen. Unberücksichtigt lassen wir hierbei, wie diese Stoffe sich chemisch verändern, durch Verbindung oder Abspaltung molecular vergrößert oder verringert, und ob sich die Gestalt und Färbbarkeit selber geändert hat. Ferner wird aus der obigen Begriffsfassung wohl klar hervorgehen, daß wir nicht etwa annehmen, daß aus Chromatinen nur Chromatine, d. h. färbbare und im mikroskopischen Präparate geformt erscheinende Teile entstehen würden, sondern es wäre denkbar, daß durch eine Reaktion mit einem Chromatin zugleich chromatische und nicht chromatische Substanzen entstehen könnten. (Daß chromatische Substanzen in die Bildung nicht chromatischer völlig aufgehen, werde ich unten besprechen.) Die Bezeichnung »Chromatin« wird infolgedessen für uns ein Sammelname sein für eine Reihe von Substanzen, welche genetisch zusammenhängen und durch ihre Färbbarkeit leicht verfolgbar und auffällig sind. Bei unserer, so gut wie völligen Unkenntnis über die chemische Konstitution dieser Stoffe und den Chemismus ihrer Umsetzungen, wird es wohl auch schwer sein, den Begriff Chromatin brauchbar anders zu umgrenzen, und von einer Richtung, welche jenen lästigen Mangel an elementarer Erkenntnis durch phantasievolle Spekulationen zu ersetzen sucht, möchte ich mich durchaus fernhalten.

Wie die Chromosomen bei der Umbildung der Teilungsfigur zum »Ruhekern« sich verhalten, ist des öfteren beschrieben worden. Als Resultat erhält man ein in dem Schaumwerk der Grundsubstanzen verlaufendes

Flechtwerk größerer und kleinerer Körnchen chromatischer Stoffe und schließlich die Bildung eines Nucleolus. Es wäre unbedacht, zu behaupten, daß es sich dabei um eine bloße Auflockerung und Verteilung der Chromosomen handelte und daß die Chromatine des Ruhekerns genau dieselbe Zusammensetzung besäßen, wie diejenigen der Chromosomen, zumal sie im mikroskopischen Präparate schon für unser Auge, besonders in bezug auf Färbung, ein ganz andres Aussehen besitzen. Ebenso ungerechtfertigt wäre es, anzunehmen, daß bei diesem Prozesse nur die Chromatine in Reaktion treten und nur Chromatine gebildet würden. Besonders eindeutig zeigt uns dieses alles die Entstehung von Karyomeren, wo vermittels eines einzelnen Chromosoms, ohne daß Grundsubstanzen aus der Spindel mehr zur Verfügung stehen, ein ganzer Kern, also auch Grundsubstanzen gebildet werden. Daß das Chromosom dieses allein nicht ausführen kann, sondern mit den umgebenden Substanzen (in diesem Falle des Eiplasma) in Reaktion kommen muß, braucht wohl kaum hervorgehoben zu werden. Schließlich dürfte uns auch die bloße Überlegung, daß ohne Umsetzung überhaupt keine Veränderung möglich ist — denn wo sollte sonst die Energie zu der letzteren herstammen— sagen, daß sich mit Ausdrücken wie »Auflockerung« und »Verteilung« kein biologischer Prozeß abtun oder unsrer Erkenntnis näher rücken läßt.

Wir haben soeben erschließen müssen, daß Chromatine keine starren Gebilde sein können (sollte es für höchstkomplizierte organische Verbindungen noch nötig sein, auf derartige Fragen einzugehen?), sondern fortwährender Veränderlichkeit und Zersetzlichkeit unterworfen sind und auf dem Rhythmus derselben für alle Stoffe, welche den Organismus ausmachen, werden wohl die Lebensprozesse beruhen und überhaupt das, was wir als Leben bezeichnen. Wir haben nun im Laufe der vorliegenden Untersuchung derartige Veränderungen der Chromatine auch sehen können, Prozesse, welche ich im speziellen Teile als verschiedene Phasen (in allgemeinem, nicht in physikalischem Sinne) oder besser Etappen des Chromatins unterschied. Damit soll ja nicht gesagt sein, daß diese Etappen die einzigen Veränderungen der chromatischen Stoffe darstellten, denn es ist in höchstem Grade unwahrscheinlich, daß alle Veränderungen für unser Auge erkennbar werden müßten, und ebenso wenig, daß es sich dabei um besonders wichtige Veränderungen handelte, dann aus der Auffälligkeit eines Prozesses läßt sich durchaus nicht auf seine relative Wichtigkeit schließen. Es sind einfach Veränderungen, welche für uns sichtbar wurden und deren Eintreffen wir demnach konstatieren konnten, ohne daß wir über ihre physiologischen Qualitäten im geringsten orientiert wären.

Von theoretischer Bedeutung (wenn auch dieser Vorgang sich schon aus der Entstehung eines Karyomers vermittels des einzelnen Chromosoms erschließen ließe) ist dagegen, daß wir feststellen konnten, daß das Endprodukt dieser Umwandlungen der Chromatine Grundsubstanzen sind. Wir haben demnach einen Übergang von chromatischen Stoffen in achromatische gefunden und können erkennen, daß die Grundsubstanzen selbst eine Etappe in den Umwandlungen der protoplasmatischen Stoffe darstellen. Die Bilder, welche uns diesen Vorgang illustrierten (vgl. S. 323) und zu den wichtigsten der vorliegenden Ovogenese gehören, sind die Fig. 91 und 92 auf Taf. XXVII. Sie stellen Schnitte durch zwei Kerne aus demselben Ovar dar und die Schnittserie ist auf demselben Objektträger behandelt. Fixation und Färbung ist demnach für beide Kerne völlig identisch. Das Kernstadium ist die beendigte Entleerung des vorletzten Keimbläschennucleolus. Auf Fig. 92 ist der Restkörper dieses Nucleolus ersichtlich, für den Kern der Fig. 91 lag er auf einem andern Schnitt. Die chromatische Schleife, welche dem Nucleolus entstammte und die anfänglich schmal und intensiv gefärbt war (vgl. Fig. 88, 89 und 90) ist hier aufgequollen und hat das Aussehen der umgebenden Grundsubstanz angenommen. In Fig. 91 ist dieser Prozeß noch nicht völlig beendet und es ist in der Schleife noch ziemlich viel färbbares Chromatin vorhanden, die Schleife ist dementsprechend noch nicht ganz so breit wie in der folgenden Figur. In Fig. 92 ist die Umwandlung zu Grundsubstanz beendet, nur vier kleine Körnchen sind noch chromatisch, die neugebildete Grundsubstanz geht an verschiedenen Stellen kontinuierlich in die alte über und sie ist von dieser nur noch daran zu unterscheiden, daß sie noch nicht so gleichmäßig gequollen und verteilt ist und demnach in ihrer Masse etwas dichter erscheint.

Das Grundwabenwerk in beiden Kernen findet nur in regelmäßig verteilten winzigen Bläschen seinen Ausdruck, welche wie auf den Kreuzungspunkten eines unsichtbaren Tülls gelegen sind. Durch Eisenhämatoxylin werden dieselben nicht gefärbt und haben ein gelbliches Aussehen. Mit andern Farbstoffen z. B. Hämalaun-Eosin, Carmin, Safranin, nehmen sie eine ganz blasse Tinktion an. Ich habe im speziellen Teile, um nicht die Beschreibung zu komplizieren, diese immerhin noch geformt und etwas gefärbt aussehenden Teile als letzte Etappe des Chromatins unterschieden, zugleich bemerkend, daß gleichzeitig (besser: »etwas frühzeitiger«) mit ihnen auch die dazwischen gelegenen Substanzen entstehen müßten (S. 324). Dieses letztere hatte ich schon, bevor ich die Stadien der Fig. 91 und 92 gefunden hatte, konstatiert, da, wenn eine noch so kleine, chromatische Partie zerfällt, die dabei gebildeten, winzigen Bläschen nie

Fäserchen bilden, sondern sofort wie um einen Hohlraum gruppiert erscheinen. Was sind nun diese Bläschen? Sind es nur die Wabenecken, welche durch die Fixation so koaguliert werden? Dieses erscheint als unwahrscheinlich, denn ihre Gestalt ist dazu viel zu regelmäßig. Jedenfalls gehören oder stammen sie aus der Wabenwand und das Wahrscheinlichste ist, daß es Vacuolen — Grundsubstanzbläschen — sind, welche sich in der Wabenwand, zum Ersatz für die andern, ausgebildeten Vacuolen, abzuscheiden beginnen. (Beim Chromatinabbau würde demnach Fig. 56, Taf. XXIV, hinter Fig. 57 zu setzen sein, welch letztere die Bildung oder Quellung zu einer ersten Etappe von — in diesem Falle stark chromatischen — Vacuolen zeigen würde, während in Fig. 56 in der Wabenwand neue — ebenfalls noch chromatische — Bläschen in Bildung begriffen wären.)

Wie in unmittelbar aufeinanderfolgenden Stadien aus einer Grundsubstanz, in welcher nur die Bläschen zum Vorschein treten, eine völlig vacuolisiert aussehende richtige Schaumstruktur ohne jene Bläschen entsteht, kann uns Fig. 86 gegen Fig. 88 und 89 illustrieren. Ich habe diese Figuren gezeichnet, bevor ich die Umbildungen zur Grundsubstanz fand und hatte nur das Bestreben, das Aussehen des Präparates möglichst naturgetreu wiederzugeben, ohne daß ich hätte begreifen können, um welche Erscheinungen es sich genau handelte. Als ich hernach auf diese Verhältnisse aufmerksam wurde, habe ich jene Bilder nochmals mit den Präparaten verglichen und gefunden, daß sie tatsächlich denselben entsprachen. Gleichsam die Kontrolle oder Probe für diese Veränderungen bietet uns das nächstfolgende Plasmastadium während der Ausbildung des letzten Keimbläschennucleolus (Fig. 61, Taf. XXIV). Bei diesem sind auch die letzten Bläschen, welche in den Fig. 88 und 89, Taf. XXVII, und Fig. 60, Taf. XXIV, noch an den Wabenwänden vorhanden waren und zu ihrer Verdeutlichung beitrugen, gequollen, sodaß hier die Struktur ganz unsichtbar geworden ist und das Plasma einen völlig homogenen, glasklaren Eindruck macht, in welchem kein einziges Pünktchen mehr erkennbar ist (S. 325). Aus dem Gesagten geht hervor, daß der letzte Grad der Umbildung der Zellbestandteile nach einer Richtung hin in der Überführung in den flüssigsten Zustand besteht, und dies ist eigentlich, vom physiologisch-chemischen Standpunkte aus, etwas ganz Selbstverständliches. Wir haben demnach bei der Umwandlung der Zellstoffe einen Gegensatz zwischen dem wenigst flüssigen, konzentriertesten Zustande, dem Chromatin erster Etappe, wie es aus dem Nucleolus oder den Chromosomen entsteht, und der sehr flüssigen Lösung in der Grundsubstanzvacuole. Zu dieser werden die Zellstoffe umgewandelt, sei es, daß sie zur Beschaffung von Energie gänzlich abgebaut werden, sei es, daß sie nur in Verbindungen

übergeführt wurden, welche als Bausteine zu neuen Synthesen dienen, worunter auch die Rückgewinnung neuen Chromatins einbegriffen ist. In diesen ganzen Prozeß ist die Verwendung der importierten Stoffe eingeschaltet und die einzelnen Vacuolen sind die Laboratorien, die Reaktionsgefäße der Zelltätigkeit.

b) Nucleolus.

Im Kerne findet eine fortwährende Umbildung von Chromatin statt. Das Chromatin wäre bald verbraucht, falls nicht ein Ersatz dafür geschaffen würde. Der Ort, in welchem diese Bildung von Chromatin stattfindet, wird durch das als Nucleolus unterschiedene Gebilde dargestellt. Der Nucleolus ist demgemäß ein Teil des Ruhekernes, in welchem sozusagen die entgegengesetzte Reaktion wie in dem übrigen Kerne stattfindet. Diesem entsprechend besteht der Nucleolus in seinem jüngsten Zustande, in welchem wir ihn als solchen definieren können, aus einem Teil des Schaumwerkes des Kernes, dessen Tätigkeit sich dadurch gekennzeichnet hat, daß auf seiner Peripherie fertiges Chromatin in Bläschen sich abzuscheiden beginnt, wodurch das Gebilde selber abgegrenzt wird (Fig. 50, 51 u. 52, Taf. XXIV). Wir haben nach den eben zitierten Figuren (vgl. auch S. 321) gesehen, daß das »Kernnetz« im Nucleolus kontrahiert ist, sodaß das umliegende »Gerüstwerk« eine strahlenartige Anordnung nehmen muß. Es ist aber nicht wahrscheinlich, daß diese Verhältnisse auch in Wirklichkeit eintreten: Im Nucleolusteile geht eine andre Reaktion wie im übrigen »Kernnetze« vor sich, seine physikalische und chemische Zusammensetzung ist demnach eine andre und so ist es klar, daß die Fixierflüssigkeit auf beide Teile nicht von gleicher Wirkung sein kann, wodurch die Spannung zwischen denselben hervorgerufen wird. Im Innern des Nucleolus ist demnach ein Schaumgerüstwerk, in welchem bald größere und kleinere chromatische Körnchen abgeschieden werden (Fig. 51, 52, 53 und 54, Taf. XXIV. — Diese Struktur ist schon des öfteren gesehen und beschrieben worden, wenn auch eine Deutung derselben bisher unmöglich war, man vgl. z. B. G. Trinci: Studii sull'oocite dei Celenterati durante il periodo di crescita. Archivio di Anatomia e di Embriologia. Vol. V Fasc. 4 p. 601, 602. Tav. XXXIV—XXXV, Fig. 29 e 30. Tiarella parthenopea) und welches mit seinen vielen Abteilungen, den Schaumblasen, auch sehr wohl geeignet ist, eine chemische Fabrik im kleinen darzustellen, in welcher das Chromatin gebildet wird. Die umschließenden Bläschen fungieren als Behälter für die fertige Ware, sie werden immer dichter gefärbt und zahlreicher, wodurch der Innenraum immer mehr zurückgedrängt und aufgebraucht wird (Fig. 54, Taf. XXIV), und wenn dieser Prozeß beendet

ist (Fig. 55), hört die Entwicklung im Nucleolus auf und er zerfällt. Trotz der peripher umgebenden chromatischen Blasen behält jedoch das Kernnetz im Innern des Nucleolus seinen Zusammenhang mit dem äußeren Kernnetze; an sehr gut fixiertem Material kann man deutlich erkennen, wie die Kernstruktur in feinen Fasern (Wabenwänden) an dem Nucleolus ansetzt. Freilich bildet der festere periphere Kranz von Chromatinkugeln einen Schutz des Nucleolus gegen die Verzerrung durch die Fixationsströmung: Während das Kerninnere zu einem künstlerischen Flechtwerk wird, in dem jedes mathematische Prinzip derart verdrängt erscheint, daß wir alle Mühe haben, es halbwegs so ungezwungen zeichnerisch nachzubilden, kontrastiert der Nucleolus mit seiner abgezirkelten, kugelrunden Form derart, als sei er vollständig unabhängig und ginge ihn der Rest der Zelle gar nichts an und wir in der Tat geneigt sind, ihn als etwas ganz Besonderes anzusehen. Betrachten wir aber Nucleolen, welche die chromatische Schutzkapsel noch nicht so vollständig entwickelt haben, wie die Fig. 110, 111 und 112, Taf. XXVII, uns solche mit graduell verschiedenem Chromatingehalt darstellen, so sehen wir, wie sie gerade so geschmeidig wie das äußere Kernnetz alle Verzerrungen mitmachen und wie ihr inneres Netzwerk kontinuierlich in dasjenige des Kernes übergeht, so daß es uns offenbar wird, daß der Nucleolus nicht ein Ding für sich, sondern wirklich ein Teil, noch besser ein »Gebiet« des Kernes und weiter der Zelle ist.

Die Bildungs- und Entwicklungsweise des Nucleolus bringt es mit sich, daß derselbe gleich in seiner fertigen Größe erscheinen kann (in dem Momente, in welchem an seinem Rande Chromatin sich abzuscheiden beginnt; damit soll nicht verneint sein, daß der Antrieb zu seiner Entstehung von einem Punkte ausgegangen sein könne). So ist der Nucleolus im reifen Zustande (Fig. 55, Taf. XXIV) nicht größer als bei seiner Bildung (Fig. 51 und 52 auf gleicher Tafel). Wenn nun ein Nucleolus noch nicht reif und zerfallen ist und in der Zelle die Bedingungen zur Entstehung eines neuen gegeben sind, so bildet sich dieser dicht neben dem alten, sodaß der letztere, stark chromatische, dem neuen, wenig chromatischen, kappenartig aufgelagert erscheint, was man zweckmäßig als apponierten Nucleolus bezeichnen kann.

Die Fig. 35, Taf. XXIII, und 44, Taf. XXIV, veranschaulichen uns diese Vorgänge. Alle Kerne des Stadiums der Fig. 44—45, Taf. XXIV, zeigen derartige apponierte Nucleolen, so daß, da der neu hinzugetretene Nucleolus wirklich eine neue Generation darstellt, man in der zweiten Wachstumsperiode eigentlich vier Nucleolengenerationen zählen müßte, abgesehen von der Möglichkeit, daß sich dieser Appositionsprozeß mehrmals hintereinander wiederholen könnte, während jedesmal der alte Nucleolus verbraucht

wurde. (Da ich im speziellen Teile nicht auf diese Fragen eingehen wollte, welche zu weit geführt hätten, habe ich dort nur von drei Generationen von Nucleolen gesprochen.) Wenn nun kurz nacheinander sich viele Einzelnucleolen apponieren, so erhält man einen zusammengesetzten Nucleolus, wie solche oft während der ersten Wachstumsperiode entstehen (Fig. 11 und 12, Taf. XXIII, vgl. S. 313). Desgleichen ist der letzte Nucleolus vor der Reifespindel nach diesem Typus aufgebaut (Fig. 59, 60, 61, Taf. XXIV). Solche zusammengesetzten Nucleolen können sich sekundär mehr oder minder vereinfachen, indem die Innenräume von mehr oder weniger Einzelnucleolen zusammenfließen (Fig. 33, Taf. XXIII, vgl. auch unten die Chromosomenbildung). Bei dem letzten Keimbläschennucleolus kommt es hingegen nicht zur Vereinheitlichung (mindestens nicht zur völligen), sondern die Teilnucleolen trennen sich sogar bei ihrem Zerfall (Fig. 62 und 62a, Taf. XXIV). Diese relative Unabhängigkeit der Teilnucleolen von einander kann man wohl als Übergang zu Formen betrachten, bei denen im Kerne zahlreiche Nucleolen vorhanden sind, da es für große Kerne, bei Bildung von Teilnucleolen, zweckmäßig sein wird, daß diese, anstatt zusammen zu liegen, auf verschiedene Gebiete des Kernes verteilt werden. Es ist klar, daß der Unterschied von einfachen und zusammengesetzten Nucleolen, welche für einander während derselben Periode (der ersten Wachstumsperiode Fig. 3, 4, 10, 18 und 11, 12, Taf. XXIII) vikarieren und, wie eben gesehen, ineinander übergehen können, ein rein äußerlicher ist und daß es funktionell gleichgültig sein wird, ob der chromatinaufbauende Kernteil räumlich einheitlich oder in mehrere Teile abgegrenzt erscheint.

Über das Verhalten des Nucleolus bei der Zellverschmelzung, welches auch von allgemeinem Werte für die Beurteilung seiner Natur sein kann, habe ich im speziellen Teile ausführlich berichtet (S. 314).

Der Zerfall des Nucleolus, seine Abgabe von Chromatin und die Verwendung des letzteren auf dem Kernnetze habe ich im speziellen Teile zur Genüge besprochen. Nur auf einen Fall möchte ich noch kurz eingehen, da er sonst zu Mißverständnissen Anlaß geben könnte. Wir haben gesehen, wie in der zweiten Wachstumsperiode dem zweiten Nucleolus (eigentlich dem dritten, wenn wir den apponierten Nucleolus mitzählen) nach seiner Reife eine lange chromatische Schleife entquillt (Fig. 56 und 57, Taf. XXIV, Fig. 88, Taf. XXVII). Man darf sich nun die Sache nicht etwa so vorstellen, als würde der Nucleolus im Kern an derselben Stelle bleiben und von dieser aus einen langen Faden aus sich herausschießen, der sich in Spiraltouren umlegt. Das Chromatin, welches aus dem Nucleolus herauskommt, gewinnt sofort Beziehung zu dem Kernnetze, es verbreitet sich auf demselben, verwandelt sich in andere chromatische Etappen, welche

mehr Raum einnehmen, schließlich in Grundsubstanz, welche mit der andern sich verbindet, und der Chromatinfaden wird durch diese Prozesse gewissermaßen sofort verankert. Was sich demnach bewegen muß, und zwar in umgekehrter Richtung wie die Ausstoßung des Chromatins, ist der Rest des Nucleolus selbst, der sich förmlich mit Hilfe des Chromatinfadens wegschiebt, zumal der Restkörper desselben mit dem Kernnetze nicht mehr verbunden ist (S. 324 und Fig. 92, Taf. XXVII). Wie und wodurch das Chromatin selbst aus dem Nucleolus herauskommt, entzieht sich, wie die Begründung von so gut wie allen Bewegungen in den Zellen, einstweilen total unsrer Erforschung, wir können nur sagen, daß es Resultate und Erscheinungen des Stoffwechsels sind, aber das ist recht wenig.

Obwohl Beziehungen des Nucleolus zu dem Chromatin oder den Chromosomen von vielen Forschern angegeben wurden, so gibt es doch eine Reihe von Autoren, welche der gegnerischen Ansicht sind. Wenn ich auf diese Streitfrage eingehe, so ist es nicht, daß ich es für nötig halte, die Befunde dieser Arbeit gegen die letztere Meinung verteidigen zu müssen, denn es wäre merkwürdig, wenn man es für notwendig erachtete, Tatsachen gegen eine Theorie zu verteidigen. Sondern es erscheint mir interessant, zu untersuchen, wie es eigentlich kommt, daß man bisher so wenig Positives über die auffälligste Erscheinung in der Zelle wußte, daß man sich nicht einmal über die fundamentalsten Fragen einigen konnte, während es doch nach dieser Arbeit scheinen sollte, daß der Nucleolus vor allem andern am allerleichtesten verfolgbar wäre. Die Gründe hierzu können einmal an den untersuchten Objekten liegen. Der vorliegende Typus von Eibildung hat in der Tat eine Besonderheit; durch die Kernverschmelzung werden die Nucleolen (vgl. S. 314) plötzlich in ihrer Entwicklung aufgehalten und müssen zerfallen. Dies ermöglicht, auf das genaueste zu verfolgen, was aus ihnen entsteht und wie es verwendet wird. Entsprechend und vielleicht veranlaßt durch die tiefgreifende Veränderung der Verschmelzung, verläuft die Weiterentwicklung des Eies periodenweise, sodaß wir sogar die Generationen der Nucleolen in der letzten Wachstumsperiode zählen können und Bildung und Zerfall der letzteren uns über ihre Bedeutung keine Zweifel mehr lassen. Dagegen gibt es sicher Fälle, bei denen die Nucleolen von Anfang bis zu Ende persistieren, indem sie fortwährend das ersetzen, was sie konstant, aber in kleinen Portionen abgeben. — Man denke an den Mechanismus der Appositionsnucleolen. — Nachdem einmal die Tätigkeit des Nucleolus erkannt ist, läßt sich dieser Prozeß, mindestens was die Stoffabgabe anbetrifft, an verschiedenen Objekten, besonders Drüsenzellen, sehr schön verfolgen. Wenn nun aber der ganze Kern sehr dicht mit Chromatinkörnchen erfüllt ist,

wer wird es da, wenn auch die Tätigkeit des Nucleolus noch so rege ist, auf sich nehmen wollen, zu erklären, dieses oder jenes Körnchen sei vor kurzem aus dem Nucleolus ausgestoßen worden? In einem solchen Falle erscheint uns der Nucleolus genau so unveränderlich, wie das Kernnetz selbst, und er ist es in der Tat gerade so wie ein Wasserfall. Ein derartiges Material beweist selbstverständlich ebensowenig gegen, wie für die Tätigkeit des Nucleolus und kann zur Lösung der Frage nicht beigezogen werden.

Jedoch gibt es aber noch Gründe, die nicht an dem Objekte, sondern an der Art der Untersuchung liegen. Viele Arbeiten verfolgten andre Probleme und beschäftigten sich nicht mit dem Nucleolus, sodaß wir darin keine Angaben über denselben oder nur sehr flüchtige finden, ja diese Nichtbeachtung war sogar in vielen Fällen beabsichtigt, da man der Frage nach der Tätigkeit des Nucleolus gar kein Interesse schenkte. So merkwürdig dieses Verhalten erscheinen mag — denn ist doch der Nucleolus sicher der allerauffälligste Teil des Zellbildes, welcher die eigentümlichste Struktur aufweist — so wird es doch verständlich, wenn wir bedenken, daß diese Arbeiten von der eine Zeitlang fast allein herrschenden Theorie beeinflußt waren, daß es sich bei den Erscheinungen der Zellfunktionen um (persistente) Zellorgane handelte. (In der Bezeichnung »Organ« ist der Begriff »Persistenz« an und für sich enthalten.) In dieses System paßte eben der Nucleolus absolut nicht hinein, denn man sah ihn nicht in die Teilungsfigur eingehen, dafür aber vollständig verschwinden, und da er sehr groß war, größer als alle andern Zellteile, konnte man für ihn nicht wie für die Chromosomen in Ruhekernen die Entschuldigung anführen, er würde sich bloß verstecken. Da er sich der Theorie nicht einfügte, paßte man ihn eben der Theorie an und betrachtete ihn als etwas von sehr geringer Bedeutung. Sehr bekräftigen mußte es diese Ideen, daß der Nucleolus oftmals nicht nur verschwand, was man noch als ein Aufbrauchen als Nährmaterial oder sonstwie für einen Prozeß von einiger relativen Wichtigkeit ansehen konnte, sondern daß er vor der Teilung aus dem Kerne förmlich ausgestoßen wurde. Hier erschien er gar direkt als schädlich und in der Tat fassen ihn einige als Exkretionsorgan auf. — Ein Exkretionsorgan, welches für alle diejenigen Fälle, in denen es vor der Teilung nicht expulsiert wird, und das sind bei weitem die meisten, die Eigenschaft hätte, alle schädlichen Stoffe mitten in der Zelle aufzustapeln, um sie auf einmal wieder abzugeben; man betrachte hierzu die Fig. 16, 17, 20, 21, 25, 28, 29, 30, 31, Taf. XXIII, Fig. 45, 46, 47, 48, 49, 56, 57, 62, Taf. XXIV, 87, 88, 89, 92, Taf. XXVII. — Was nun diese in mehreren Fällen beobachtete Expulsion des Nucleolus vor der Teilung anbetrifft,

so haben wir in dieser Ovogenese verfolgen können, wie der Restkörper des vorletzten Nucleolus aus dem Kerne ausgestoßen wird. In diesem Falle ist er vollständig ungefärbt. Die ebenfalls eliminierten Restkörper der letzten Nucleolengeneration haben dagegen von zurückgebliebenen geringen Chromatinresten noch eine deutliche Färbung (Fig. 62 und 62a Taf. XXIV). Was man also als ganzen Nucleolus auffaßte, war in den meisten Fällen nur sein Schatten, welcher fast gar kein Chromatin mehr enthielt. Nun kommt es in einigen Ovogenesen sicher vor, daß ein noch sehr substanzreicher Nucleolus ausgeschieden wird. Wie ist nun dieses aufzufassen? In der großen Mehrzahl der Fälle wird bei der Ovogenese in den letzten Stadien mehr Chromatin gebildet, als in die Spindel aufgenommen wird. Der Überschuß wird mit Kernteilen abgeschmolzen oder aus dem Kerne ausgestoßen. Nichts anders liegt bei dem Ausstoßen eines chromatinreichen Nucleolus vor: Es wurde im Verlaufe der Ovogenese mehr Chromatin aufgebaut, als für das reife Ei, welches notwendig seine aktiven Stoffe auf das äußerste reduzieren muß, nötig war; mit einem Teil Chromatin, den der Nucleolus abgegeben hatte, war für die Spindel schon genügend vorhanden und der große Rest des Nucleolus nimmt infolgedessen an dieser Spindel keinen weiteren Anteil. Bei Amphibien, bei Daphnien und mehreren andern Objekten wird für die Reifespindel von dem ganzen Kern kaum der hundertste Teil verwandt. Wird es jemanden in den Sinn kommen, zu behaupten, der ganze Kern sei deswegen für die Zelle unnütz gewesen, und doch könnte man es hier für den Kern mit dem genau gleichen Rechte schließen, wie dort für den Nucleolus.

Weitere Gründe zu unsrer bisherigen geringen Kenntnis der Nucleolenverhältnisse können im folgenden gegeben sein: In vielen Beschreibungen von Ovogenesen fehlen uns die letzten Stadien, welche für das Studium des Verhältnisses von Nucleolus und Chromatin die wichtigsten wären, in manchen haben wir zwar die Reifespindel beschrieben, dagegen vermissen wir die Stadien unmittelbar vorher. Ich erinnere an das Stadium dieser Ovogenese, das auf die Auflösung des vorletzten Nucleolus folgt, Fig. 90, Taf. XXVII: Der Dotter ist in dem Ei vollständig fertig gebildet, außerhalb des Kernes kann keine Veränderung mehr vor sich gehen. Von dem Chromatinband, welches der Nucleolus ausschied, haben sich Teile völlig gelockert, die übrigbleibenden treten als Schleifen hervor. Könnte man da nicht von Chromosomen reden, welche nur »sich zusammenzuziehen«, »konzentrieren« brauchen, um in die Reifespindel einzutreten. Wieviel liegt aber noch zwischen beiden Stadien, was gewiß nicht vorauszusehen war (Fig. 58 bis 62a) und in wie mancher Ovogenesen-

beschreibung ist die Kluft zwischen dem als vorletzten beschriebenen Stadium, welches unmittelbar (?) in die Spindel aufgehen soll, und dieser Spindel mindestens gerade so groß, wie zwischen dem hier beschriebenen Stadium der Fig. 90 und der Reifespindel?

c) Chromosomen.

In der Reifespindel werden die Chromosomen aus einzelnen, anfänglich völlig getrennten chromatischen Körnchen zusammengesetzt (Fig. 79 u. 80, Taf. XXVI, zeigt die noch getrennten Körnchen, welche sich zu gruppieren beginnen, während in Fig. 84 schon Chromosomen gebildet sind, welche ihre Zusammensetzung aus einzelnen Körnchen deutlich ersehen lassen.) Die Entstehung und den Bau der einzelnen Körnchen konnten wir jedoch hierbei nicht verfolgen, dagegen sind diese recht deutlich erkennbar bei der Bildung der Chromosomen für die Teilung der Ovogonien und Hodenzellen. Hier sieht man, wie diese Chromatinkörnchen zuerst helle Bläschen sind, von denen zunächst nur die Oberfläche chromatisch gefärbt ist. Von solchen Bläschen wird eine Menge zur Bildung eines Chromosoms zusammengelagert, wie dies z. B. Fig. 34a für Elemente des Hodens zeigt (Safranin, Gentiana, Lichtgrün-Färbung). Die einzelnen Bläschen können teilweise durch Zusammenfließen sich vereinigen. Eine Abbildung hierfür gibt uns Fig. 34b nach Stadien der Vorbereitung zur Ovogonienteilung (Eisenhämatoxylin-Färbung). Die chromatische Kruste der einzelnen Bläschen wird gegen das Innere immer dicker, bis diese schließlich den Eindruck kompakter Körnchen machen. Die Ähnlichkeit zwischen der Bildung eines Chromosoms und derjenigen eines zusammengesetzten Nucleolus ist demnach äußerst auffällig. Man vgl. z. B. die Bildung der Chromosomen auf Fig. 34a (1500 Vergr.) mit der Bildung zusammengesetzter Nucleolen der ersten Wachstumsperiode, Fig. 11 und 12, Taf. XXIII, oder gar des letzten Nucleolus vor der Reifespindel Fig. 59, 60, 61, Taf. XXIV, (beides 1000 Vergr.) und das Zusammenfließen der Bläschen der Chromosomen, Fig. 34b, Taf. XXIII, (1500 Vergr.) mit demselben Prozeß bei zusammengesetzten Nucleolen, Fig. 33, Taf. XXIII, (1500 Vergr., vgl. hierüber S. 335). Nur scheint es, als würde in die Chromosomen bei ihrer Bildung nicht der Inhalt der größeren Schaumvacuolen aufgenommen, jedoch geschieht dies auch nicht bei der Bildung der Nucleolen in jungen Zellen (Fig. 19 und 27, Taf. XXIII, Fig. 51a, Taf. XXIV). Hand in Hand mit der Ähnlichkeit der Bildung und des Baues von Nucleolus und Chromosomen geht die Ähnlichkeit ihrer Funktion: Der Nucleolus liefert die für den Kern benötigten Stoffe, Chromatine bis Grundsubstanzen während der sogenannten Ruheperiode, die Chromosomen tun dasselbe für die Periode nach der

Teilung (man vgl. das oben S. 330 für die Karyomeren Gesagte). Chromosomen und Nucleolen vikarieren demgemäß für einander und lösen einander ab. Auf keinen Fall handelt es sich bei der Chromosomenbildung um ein bloßes »Zusammenlesen« oder »Zusammenziehen« von Chromatinen des Kernnetzes (vgl. oben über die chromatischen Veränderungen S. 330).

d) Wechselbeziehung zwischen Kern und Plasma.

Dem Kerne fällt die Aufgabe zu, aus chromatischen Stoffen Grundsubstanzen aufzubauen. Es fragt sich nun, ob diese letzteren weiter umgesetzt werden, ob sie dem Plasma zugute kommen und zu dessen Bildung beitragen, wie die Produkte des Nucleolus für den Kern, und ob diese Umsetzungen erkennbare Erscheinungen geben? Diese Fragen müssen entschieden bejaht werden: Wir haben in der Hauptwachstumsperiode des Eies (der zweiten Wachstumsperiode) verfolgen können, wie der Plasmazuwachs, die Bildung neuen Plasmas von der Peripherie des Kernes ausgeht (S. 319 und folg.). Zuerst entsteht nur eine schmale Schicht (Fig. 43, Taf. XXIV; Fig. 63, Taf. XXV), welche an Ausdehnung immer zunehmend (Fig. 32, Taf. XXIII, Fig. 65 und 71, Taf. XXV), das Ei schließlich um ein vielfaches vergrößert, sodaß das frühere Plasma (bis zu Beginn der Dotterbildung) zu einer engen Partie am Rande des Eies verdrängt wird (Fig. 72, Taf. XXV). (Mit dem homologen Prozesse werden wir es wohl bei der Enstehung der kalottenartigen Gebilde zu tun haben, welche den Kernen der jungen Ovocyten anliegen [S. 305 und Fig. 1, Taf. XXIII]. In beiden Fällen ist auch das neue Plasma zu Beginn stärker acidophil.)

Auf den ersten Blick scheint es unwahrscheinlich, daß dieser grobblasige, inhaltsarme Kern ein so dichtes, substanzreiches Schaumwerk erzeugen könne, wie den Plasmazuwachs der Zelle. Wenn wir aber die Sache überdenken, so spricht gerade die Stoffarmut des Kernes für seine starke Tätigkeit nach außen hin: Denn wir sehen, wie während der zweiten Wachstumsperiode in einem fort im Kerne die Unmengen von Chromatinen, welche bei der Kernverschmelzung aufgestapelt wurden, umgebildet werden, und doch findet im Kerne selbst keine Substanzanreicherung statt. Wo kommen demnach alle die gebildeten Stoffe hin? Dagegen, wenn der Plasmazuwachs des Eies aufgehört hat und das Plasma in Deutoplasma sich umzuwandeln beginnt — der Kern demnach nicht mehr vom Plasma beansprucht wird — können wir verfolgen, wie Schritt für Schritt die Kernstruktur dichter und feinschaumiger wird, bis schließlich der Kern von einem äußerst dichten Schaumwerke völlig ausgefüllt ist (Fig. 58 und 60, Taf. XXIV, gegen Fig. 44). Die nahe Beziehung dieser im Kerne angehäuften Stoffe zu den plasmatischen — eine Beziehung, welche uns

völlig plausibel macht, daß es sich bei den ersteren um das entsprechende der vorher als Plasmazuwachs abgegebenen Substanzen handelt — zeigt uns das Stadium der Reifespindel. Zur Zeit derselben ist das Plasma völlig zu Deutoplasma umgewandelt. Der Kern liefert notwendigerweise allein die ganze Teilungsfigur und eine (bei diesem Objekte geringe) Randpartie, welche mit den zwei riesigen Sphären das ganze Ei durchwächst, den Dotter wieder umbildend und nutzbar machend (Fig. 85, Taf. XXVI, und S. 327). Hier vikariert also die Kerngrundsubstanz — das Kernplasma — direkt für das Plasma selbst und übernimmt seine Rolle und wir können sagen, daß von dem Stadium der Beendigung der Dotterbildung an die plasmatische Komponente im Kerne sich befindet.

Von der Kerntätigkeit überhaupt sahen wir seine Bildung und Abgabe für das Plasma wichtiger Stoffe zu einem sichtbaren Ausdruck gebracht. Es ist nun klar, daß diese Tätigkeit hiermit nicht erschöpft ist, daß der Kern nicht allein zum Plasma hin arbeiten kann, sondern auch vom Plasma her Stoffe zum Ersatz seiner Umsetzungen beziehen muß, und während der Periode seiner regsten Tätigkeit zur Plasmavermehrung vergrößert er sich sogar selbst (Fig. 43 bis 45, Taf. XXIV, vgl. auch S. 303). Der Kern kann überhaupt die von außen importierten Stoffe nur indirekt durch das Plasma erhalten. In der vorliegenden Ovogenese war jedoch die Zelltätigkeit »vom Kerne her« derart auffällig, daß sie den ersetzenden Prozeß »zum Kerne hin« verdeckte. Es wäre jedoch ein Irrtum, wenn man annehmen wollte, daß dieses stets der Fall sei. Auch in dieser Beziehung liefert die vorliegende Ovogenese einen extremen Fall. Von Anfang an ist in dem Ovar fast kein Plasma vorhanden. Die Kerne liegen dicht an- und übereinander und dazwischen ist kaum etwas zu erkennen. Es ist demnach die Hauptaufgabe während der ganzen Ovogenese, da verhältnismäßig riesige Eier mit Unmengen von Dotter produziert werden, plasmatische Stoffe zu bilden. Die kurze Wachstumsperiode, welche die Ovocyte durchmacht, liefert aber auch nur ganz wenig Plasma (Fig. 10, Taf. XXIII), in der hierauf folgenden Verschmelzung werden demnach verhältnismäßig viel mehr Kern, als plasmatische Stoffe vereinigt. Wir haben, wenn ich mich so ausdrücken darf, einen reichen Kern und wenig Plasma. Da nun eine große Plasmamasse gebildet werden muß (Fig. 71, Taf. XXV), so ist es klar, daß der Kern in seiner plasmabildenden, abgebenden Tätigkeit am auffälligsten hervortreten muß. Hingegen gibt es Zellen, sogar bei Ovogenesen und sogar nach Zellverschmelzung, welche sich in dem entgegengesetzten Zustande befinden; wo wir ein reichliches Plasma und einen substanzarmen Kern vorfinden. Hier wird die Aufnahmetätigkeit des Kernes »vom Plasma her« in den Vordergrund treten

müssen. Derartige Verhältnisse bei Zellverschmelzungen in Ovogenesen, denke ich in der Fortsetzung dieser Arbeit zu behandeln.

e) Bedeutung der Zellstrukturen. Über die Erscheinungen und Funktionen der Zelle im allgemeinen. Schaumstruktur.

Betrachten wir nun die Tätigkeit in der Zelle in ihrem Zusammenhang. Wir haben gesehen, daß der Nucleolus die Funktion hat, bestimmte Stoffe der Zelle zu synthetisieren und an den Kern abzugeben. Diese Stoffe sind (sicher mindestens zum größten Teil) dadurch ausgezeichnet, daß sie sich nach Fixation leicht färben lassen und wir nennen sie deswegen Chromatine. Durch diese Tätigkeit und durch sie allein ist der Nucleolus gegeben; er ist nichts als der Ort in der Zelle, in welchem die bestimmte Reaktion des Chromatinaufbaues stattfindet. Durch die Abscheidung des Chromatins an der Peripherie seines Tätigkeitsgebietes wird er überhaupt nur für uns sichtbar und unterscheidbar von dem übrigen Kerne ausgezeichnet. Mit Beendigung dieser Tätigkeit hat auch der Nucleolus zu bestehen aufgehört, seine Produkte werden vom Kern aufgenommen und verarbeitet und mit Wiederbeginn der Reaktion des Chromatinaufbaues ist dadurch wiederum ein neuer Nucleolus entstanden. Der Nucleolus fällt demnach mit seiner Tätigkeit zusammen und ist nichts andres als das Bild, der sichtbare Ausdruck derselben.

Wie der Nucleolus durch den Chromatinaufbau ausgemacht wird, so ist der Kern durch die Verwertung und Veränderungen des Chromatins gegeben. Wir haben gesehen, wie in demselben die chromatischen Stoffe stufenweise umgebaut werden bis zu Grundsubstanzen, und aus diesen verschiedenen Umbauprodukten besteht er. Wir haben auch nachgewiesen, wie er aus diesen seinen Bestandteilen Stoffe für das Plasma aufbaut, dafür als Ersatz auch Stoffe von dem Plasma beziehen muß und die Grenze dieser Reaktionen nach außen hin und von außen her wird wie auch beim Nucleolus ihn abgrenzen und das bilden, was wir als Kernmembran unterscheiden. Es ist klar, daß diese Abgrenzung nichts Festes, Starres sein kann, sondern daß sie, je nach der verschiedenen Intensität dieser Reaktionen sich verschiebt. Diese Verschiebungen werden meist kontinuierlich verlaufen, z. B. wie beim Wachsen des Kernes (Fig. 43 bis 45, Taf. XXIV), jedoch können dieselben auch plötzlich eintreten.

In äußersten Fällen kommt es vor, daß der Kern fast das ganze Plasma in sich aufnimmt und dann tatsächlich auch völlig wie Plasma aussieht (möglich bei Aufnahmestadium des Kernes). Ich werde einen solchen Fall, den ich bei der Ovogenese einer Tubularia beobachten konnte, später behandeln.

Auch der umgekehrte Prozeß findet statt, daß ein großer Randteil des Kernes plötzlich dem Plasma zufällt (möglich bei Abgabestadium des Kernes), sodaß nur ein kleiner Teil des Kernes für den früheren ganzen eintritt (pars pro toto). Dieses geschieht bei vielen Reifespindelbildungen. In dieser Ovogenese konnten wir sehen, wie in jenem Stadium der Kern, außer den Sphären, noch ein peripheres Kernplasma zurückläßt, welches ebenfalls zu Plasma auswächst. Diese Schicht war bei *T.* (*Ilyodrilus*) *bavaricus* nicht sehr mächtig. Bei andern Tubificiden ist sie dagegen viel stärker entwickelt, wie ich später ausführen werde. Bei Amphibien (Carnoy und Lebrun) und Daphnien (Kühn) sind diese Verhältnisse am extremsten ausgebildet.

Dieses Verhalten ist jedoch nicht auf Eibildungen beschränkt, sondern kommt auch bei gewöhnlichen Gewebszellen vor, wie Fig. 36, Taf. XXIII, für die Darmzelle eines *Limnodrilus* zeigt. Hier wird ebenfalls für die Spindel (deren Entstehung aus einer Schaumstruktur deutlich hervorgeht) nur ein kleiner Teil des Kernes verwendet, während der Rest plasmatisch werden muß. Beide Zellarten, sowohl die Eier, wie die Darmzelle haben das gemeinsam, daß der größte Teil ihres Plasma in metaplasmatische Substanzen (Dotter, Stützfasern) umgewandelt ist, was das Eintreten eines Teiles Kernplasma für das frühere Plasma nötig macht, zur Bewerkstelligung der bei Zellteilung nötigen, tiefgreifenden Umbildungen.

Was nun das Plasma anbetrifft, so wird seine Tätigkeit vornehmlich darin beruhen, seine Stoffe umzubauen zur Bildung von Sekreten, Deutoplasma (in Ovogenesen Dotter), alle Arten Stützsubstanzen, kontraktile Gebilde, Intercellularsubstanzen, den Import und erste Verarbeitung der Stoffe von außen her zu bewerkstelligen, die Abbauprodukte des Stoffwechsels herauszuschaffen, kurz diejenigen Leistungen zu versehen, welche in dem direktesten Zusammenhang mit den benachbarten Zellen, dem Gesamtorganismus und der Außenwelt stehen. Auch das plasmatische Bild ist nach der jeweiligen Intensität dieser verschiedenen Prozesse verschieden und drückt dieselben in sichtbarer Form aus.

Wir erkennen demnach in der Zelle einen regen Stoffwechsel und fortwährenden Umbau; die Chromatine werden abgebaut, liefern Grundsubstanzen, von solchen wird ein Teil zum Chromatinaufbau wieder mitverwendet, die Hauptsache der Kernstoffe wird zu plasmatischen umgesetzt, diese wieder zu metaplasmatischen usw., dafür werden Stoffe importiert und wiederum assimiliert, wir finden nichts Beständiges, sondern stete Veränderung und Verwandlung. Das Zellbild, welches wir nun im mikroskopischen Präparate vor uns haben, ist nichts wie der Ausdruck,

das sichtbare (mehr oder minder verzerrte) Bild der Zelltätigkeit im Momente ihrer Fixation, die sichtbare Erscheinung ihrer unsichtbaren Veränderungen. Die einzelnen Teile, welche dieses Zellbild ausmachen und die wir als Nucleolen, Chromosomen, chromatische Strukturen, Kerne, Grundwabenwerk, Sphären, Plasma usw. zu kennzeichnen pflegen, sind und können nichts andres sein, als Teile dieses Gesamtbildes, Teilerscheinungen der momentanen Zelltätigkeit, der Ausdruck einer bestimmten Reaktion innerhalb jener Gesamttätigkeit.

Leider können wir nur die Bilder erkennen und müssen uns begnügen, sie zu beschreiben und zu serieren; die Tatsachen, auf denen sie beruhen, der Stoffwechsel selbst, ist uns noch gänzlich unbekannt und wir müssen warten, bis uns die physiologische Chemie zu Hilfe gekommen ist, damit uns diese Bilder Kennzeichen für das wirkliche Geschehen, nicht für das Hervorgebrachte, sondern für die hervorbringenden Ursachen werden können.

Es ist klar, daß der Stoffwechsel der Zelle ein Kreislaufprozeß sein muß, das was umgesetzt wurde, muß notwendigerweise wieder entstehen können. Dieses wird durch den Import und die Verwendung von Stoffen von außen her bewerkstelligt.

Weiter wird der Stoffwechsel kein willkürlicher, dem Zufall überlassener, chaotischer Prozeß sein können, sondern die den Teilerscheinungen entsprechenden Einzelreaktionen eines jeden Momentes (einer jeden Etappe) werden stets in einem ganz bestimmten Korrelationsverhältnisse zu einander stehen müssen. Aus diesem Grunde finden wir für gleiche Verhältnisse auch immer die gleichen Bilder, welche wir demgemäß diagnostisieren und den Zusammenhang mit den übrigen Bildern erforschen können, sodaß die Erkennung der Aufeinanderfolge, die Serierung der Zellbilder möglich wird.

Bei Betrachtung des Stoffwechsels muß notwendigerweise die Gesamttätigkeit innerhalb des der Zelltätigkeit unterstehenden Gebietes berücksichtigt werden. Eine Veränderung in einem Teile dieses Gebietes, welches auch außerhalb der näheren Zellgrenzen liegt, wird natürlich auch eine eventuell mittelbare Ersatzreaktion innerhalb dieser Zellgrenzen hervorrufen müssen. Ferner wird auch zu berücksichtigen sein, daß der Stoffwechsel wie jede Reaktion von den Bedingungen des Milieus abhängig ist. Unter verschiedenen Bedingungen wird man auch verschiedene Bilder erhalten, falls unter denselben noch der Gleichgewichtszustand herstellbar, also ein Leben möglich ist.

Die oben postulierte Korrelation der Einzelreaktionen des Stoffwechsels wird darauf beruhen müssen, den Gleichgewichtszustand unter

denselben herzustellen. (Ich ziehe hierbei nur die ausgebildeten Organismen und ihre Abteilungen in Betracht.) Während der Lebensbetätigung selber wird derselbe jedoch nicht oder jedesmal nur für kurze Zeit erreicht, denn während an einer Stelle zum Ersatz für verlorene Energie wieder aufgebaut wird, muß an einer andern Stelle wieder Energie an die Außenwelt abgegeben werden, was nun einen erneuten Verlust bedeutet, der wiederum ersetzt werden muß. Hierauf beruht eben die konstante Betätigung, das Leben, und die Außenwelt hat nicht nur die Aufgabe, durch Darbietung von verwendbaren Stoffen den gestörten Gleichgewichtszustand wieder herstellbar zu machen, sondern diesen hinwiederum neu zu stören, wodurch die Betätigung angeregt wird.

Wenn der Gleichgewichtszustand wirklich einmal erreicht wird, sodaß er im nächsten Augenblick nicht wieder zerstört werden kann, das organisierte System also dieser Einwirkung der Außenwelt entzogen ist, so kommen wir zu Ruhezuständen, bei denen keine Lebensäußerung mehr vonstatten geht. Dieselben finden wir bei Encystierungen, Eiern, Samen. Damit diese zu neuem Leben erwachen, muß eine bestimmte, von außen kommende Reaktion eintreten (die auch in einer physikalischen Änderung der Milieubedingungen, z. B. Wärme, Feuchtigkeit, beruhen kann), welche das Gleichgewicht wieder stört, wodurch die Wechselwirkung mit der Außenwelt, das Leben, wieder hergestellt wird.

Der in diesem Kapitel ausgesprochene Gedankengang ist auch geeignet, uns den Unterschied zwischen dem Unbegrenzt-weiter-wachsen der Kristalle und der Größenbeschränkung der Lebewesen klar zu machen: Bei den ersteren findet von dem Milieu, in welchem sie wachsen, nur eine Stoffzufuhr statt, dagegen keine Stoffwegnahme, sodaß sie so lange sich vergrößern, als die Stoffzufuhr vor sich gehen kann, dagegen muß bei den letzteren die mit der Stoffzufuhr gleichzeitig stattfindende Stoffwegnahme (Stoffverbrauch zu Energiezwecken) notwendigerweise zu einer Größenbestimmung des Systemes führen, d. h. zur Unmöglichkeit des Weiterwachsens von einem bestimmten Stadium an. Diese conditio sine qua non für Lebewesen, die Wechselwirkung (Geben und Nehmen) mit der Umwelt, welche naturgemäß nur bei einer relativ kleinen Größe durchführbar ist, wird auch erklären können, warum größere lebende Systeme sich in kleine Unterabteilungen, Organe und Zellen, die der Wechselwirkung mit der Umwelt (auch indirekt durch Wechselwirkung zwischen den einzelnen Teilen) zugänglich sind, einteilen müssen, oder vielmehr werden größere Systeme nur unter dieser Bedingung möglich sein. Dieselben werden hierdurch von der Umwelt gewissermaßen durchdrungen und durchspült und ihr in ihrem Innersten zugänglich gemacht.

Bei Besprechung des Bildes der Zelle haben wir drei Abteilungen derselben unterschieden: das Chromatin erster Etappe, wie es im Nucleolus oder den Chromosomen aufgebaut wird, den Kern und das Plasma. Es ist jedoch nicht nötig, daß diese drei Abteilungen auch stets vorhanden sind: Das Chromatin erster Etappe geht bald in Kern über und von den Abteilungen Kern und Plasma kann ebenfalls während der Zelltätigkeit die eine oder die andre ausfallen und bis zu ihrer Wiederbildung durch die zurückgebliebene ersetzt werden. So kommt es nach Teilungen (vgl. z. B. die Karyomerenbildung) oft vor, daß anfänglich nur Chromosomen und Plasma vorhanden sind, der Kernteil muß wieder neu gebildet werden. Während der hier besprochenen Ovogenese fanden wir gegen Ende der Eibildung das Plasma in Dotter umgewandelt und in seiner Tätigkeit durch den Kernteil ersetzt (vgl. S. 341). Dieses zeitweilige Vikarieren einer Abteilung für zwei führt uns zu Formen über, welche zeitlebens mit zwei Abteilungen allein auskommen, wie viele niedere Organismen. Im Gegensatze hierzu kommt es vor, daß im Kerne oder im Plasma nochmals eine Arbeitsteilung eintritt, sodaß mehr als drei Zellgebiete unterscheidbar sind. Als Beispiel mögen dienen die Kerne der Keimbläschen einiger Echinodermen, gallertbildende Plasmaschichten bei mehreren Protozoen, das Hyaloplasma der Amöben.

Schließlich will ich noch bemerken, daß ich bei Besprechung des Stoffwechsels in der Zelle nur die hauptsächlichsten Punkte berührt habe, um einen Einblick in die Zelltätigkeit, in die Veränderungen, Bewegungen und Umsetzungen in der Zelle zu erhalten. Dieser Versuch soll nicht den Anspruch erheben, auch nicht einmal in mikroskopisch-anatomischer Beziehung, vollständig zu sein. So soll z. B. nicht gesagt sein, daß die Produkte der Tätigkeit des Nucleolus und der Chromosomen lediglich aus chromatischen Stoffen, auch in unsrer weiten Begriffsfassung, bestehen, daß die Stoffe, welche aus dem Kerne dem Plasma zufallen, sämtlich unbedingt der Rubrik der Grundsubstanzen sich einreihen lassen müssen. Da wir nicht einmal wissen, welcher Art die Stoffe sind, welche wir als Chromatine und als Grundsubstanzen bezeichnen, wäre eine allzugenaue nominelle Einteilung der Stoffe in der Zelle auch zwecklos. Die Hauptsache ist, daß wir überhaupt Umsetzungen in der Zelle, und zwar von allen bisher berücksichtigten und bezeichneten Zellbildteilen, mikroskopisch nachweisen konnten.

Die vorliegende Betrachtung über die Morphologie des Stoffwechsels in der Zelle wäre nicht möglich gewesen, wenn wir nicht über die Struktur der Zellbestandteile schon bestimmte Vorstellungen gehabt hätten. Ich meine die Theorie Bütschlis über die Schaumstruktur der protoplasma-

tischen Stoffe (in Tätigkeit d. V.), auf deren eminente biologische Bedeutung besonders Hofmeister (Die chemische Organisation der Zelle. Braunschweig 1901) aufmerksam machte. Daß diese Schaum- oder Vacuolenstruktur für alle Stoffe in der Zelle zutrifft, dürfte aus meiner Arbeit hervorgehen. Man vergegenwärtige sich nochmals die Bildung des Chromatins und seine Speicherung im Nucleolus (Fig. 50, 51, 52, 53, 54, 55, Taf. XXIV, S. 333 und 334) und in den Chromosomen (Fig. 34a und *b*, Taf. XXIII, S. 339), den Zerfall des Chromatins (Fig. 57 und 56, Taf. XXIV, S. 332, Fig. 91 und 92, Taf. XXVII, S. 331), die Bemerkung über die kleinsten Bläschen in den Wabenwänden (Fig. 86 und 92, Taf. XXVII, S. 331, 332) und schließlich über die Vacuolen der Grundsubstanzen selbst (Fig. 88 und 89, Taf. XXVII, Fig. 61, Taf. XXIV, S. 332). Wir könnten uns Umsetzungen im Protoplasma, ohne daß dadurch die Schaumstruktur entstünde, überhaupt nicht vorstellen und müssen die Arbeit, welche auf diese Struktur zum ersten Mal aufmerksam machte (O. Bütschli, Untersuchungen über mikroskopische Schäume und das Protoplasma. Leipzig 1892)) als die grundlegende der exakten biologischen Forschung ansprechen.

II. Zellverschmelzung.

Was im Verlaufe der besprochenen Ovogenese wohl am meisten auffällt, ist die Zellverschmelzung. In der Tat ist dieser Prozeß geeignet, uns in mancherlei Beziehung einen Einblick in das Zelleben zu gestatten.

Weniger wichtig, da es sich dabei um nichts Neues mehr handelt, ist das Ergebnis, daß das Ei nicht mehr das Elaborat einer einzigen Zelle ist, sondern von vielen gebildet wird. Schon bei der gewöhnlichen Phagocytose von Eizellen findet ein derartiger Prozeß statt, indem die Nährzellen nicht gefressen werden wie etwa Bakterien von einem Protozoon, die Eizelle ist für sie nichts Feindliches, sondern es sieht im Gegenteil aus, als wanderten sie, wenn ich mich so ausdrücken darf, selbständig hinein, um ihre Eigenexistenz aufzugeben zum Nutzen der Eizelle. Zu diesem Zwecke haben sie sich sogar frühzeitig in ihrer Entwicklung spezialisiert, und diese ihre Entwicklung ist ohne Annahme einer Korrelation mit der Eibildung undenkbar. Das gleiche gilt für Nährzellen, welche, ohne selber in das Ei einzuwandern, demselben Nährstoffe zu seinem Aufbaue zukommen lassen, für welchen Prozeß die Nährkammern der Eier mancher Schmetterlinge ein besonders interessantes Beispiel bilden.

Weiter ist direkte Verschmelzung von Ovogonien ohne jegliche Differenziation derselben für viele Cölenteraten beschrieben worden. (Eine Zusammenstellung und Besprechung der Literatur hierüber findet man

bei G. Trinci, Studii sull'oocite dei Celenterati durante il periodo di crescita, Archivio di Anatomia e di Embriologia Vol. V, Fasc. 4, Firenze 1906.) In diesen Ovogenesen tritt besonders typisch zutage, wie eine Menge völlig gleichgebauter Zellen zusammenschließen, um eine einzige Zelle, das Ei, zu bilden. In allen eben angeführten Fällen konnte man aber immerhin noch behaupten, daß mindestens das Keimbläschen von einer einzigen Zelle abstamme — was für die Fälle gewöhnlicher Phagocytose oder Nahrungszufuhr von außen ja sicher steht — und das sei doch die Hauptsache. Dieses ist bei der Ovogenese von *T.* (*Ilyodrilus*) *bavaricus* nicht mehr der Fall. (Die Entstehung des Keimbläschens ist bei den Cölenteraten nicht genau verfolgt, sicher ist nur, daß die Kerne nicht verschmelzen.)

Für die Ovogenese von *Dinophilus apatris* hat Freiherr H. von Malsen (Geschlechtsbestimmende Einflüsse und Eibildung des *Dinophilus apatris.* Arch. mikr. Anat. u. Entw., Bd. 69, 1906) ebenfalls Zellverschmelzung aufgefunden und gibt sogar an, daß ein Teil der Kerne hierbei zum Keimbläschen verschmelzen soll, während der andere Teil aufgelöst wird. Diese Art der Eibildung ist denkbar und durchaus möglich. Während nun aber die Figur, welche die Auflösung der Kerne demonstriert, ganz eindeutig ist — die Bilder sehen denen bei Cölenteraten erhaltenen ganz ähnlich — ist die einzige Figur, welche die Kernverschmelzung illustriert (die Fig. 3 der oben zitierten Arbeit) nicht gänzlich überzeugend. Die zwei Zellen, welche verschmelzen sollen, könnten auch eine etwas eingeschnürte Zelle darstellen, wie man solche in Zellhaufen, bei denen die Zellen dicht gedrängt liegen, des öfteren finden kann. Demnach muß die Kernverschmelzung bei der Ovogenese von *Dinophilus* einstweilen noch als nicht völlig sicher gelten, mindestens war der Prozeß der Kernverschmelzung in seinem Detail an diesem Materiale nicht verfolgbar. Wir wollen denselben nunmehr, wie ihn uns die Ovogonese von *T.* (*Ilyodrilus*) *bavaricus* deutlich vor Augen führt, näher untersuchen.

Die Grundsubstanz des Kernes besteht, wie wir gesehen hatten, aus einem Schaumwerke, welches kontinuierlich zusammenschließt. Wo an irgend einer Stelle im Kerne eine Verschiebung eintritt, findet nicht etwa eine Zerreißung oder Lockerung dieses Grundgerüstes statt, sondern es fließt sofort wieder zusammen, wie das Durchführen des vorletzten Nucleolus durch den ganzen Kern ein klares Beispiel hierfür liefert (S. 335 und Fig. 88, 89, 92, Taf. XXVII). Desgleichen fließt alte und neue Grundsubstanz zusammen, wie wir aus Fig. 92 ersehen können; das alte Kerngerüst vereinigt sich mit den neuen Teilen, welche durch Umsetzung des dem Nucleolus entstammten Chromatins gebildet wurden. Demnach

werden wir erwarten müssen, daß auch bei Verschmelzung die Grundsubstanzen an ihren Berührungspunkten zusammenschließen, was in der Tat auch stets der Fall ist. Hierdurch ist eine Wechselwirkung zwischen denselben bewerkstelligt, welche zu einer Vereinheitlichung führen muß. Diese Vereinheitlichung kann jedoch nicht durch das bloße Faktum der Verschmelzung gleichsam wie durch eine magische Kraft erreicht sein, sondern die Substanzen der verschiedenen Kerne werden von ihrer Genese und bisherigen Entwicklung anfänglich noch abhängig sein. Und weil der Zeitpunkt für die Bildung und Umsetzungen der Stoffe in den verschiedenen Kernen verschieden waren — da die Bedingungen in einem Zellhaufen ungleiche sind und die Zellen auch tatsächlich nie auf dem genau gleichen Stadium stehen — so müssen sich diese Stoffe verschiedener Provenienz auch nach Verschmelzung noch abweichend verhalten, bis, durch Umbau und Wechselwirkung mit den andern, sämtliche Bestandteile auf den jeweils gleichen Zustand gekommen sind, sodaß ein gleiches Verhalten, eine Koordination derselben dadurch hergestellt ist. Diese zeitweilige Unabhängigkeit oder vielmehr Nichtkoordination der einzelnen Komponenten können wir zwar an den Grundsubstanzen, welche ja keine von einander unterscheidbare Strukturen aufweisen, nicht verfolgen, jedoch finden wir diese an den chromatischen Teilen sehr schön verdeutlicht, bei denen, wie öfters besprochen, verschiedene Etappen unterscheidbar sind. Besonders klar zeigt uns dieses Verhalten Fig. 26, Taf. XXIII. Die Struktur des unteren Kernes in derselben läßt erkennen, daß dieser aus Vereinigung eines links unten und rechts darüber gelegenen Kernes hervorging. Eine chromatische Etappe löst sich nun zu einem feinen Fasergerüst auf, und zwar erfolgt dies nur für die betreffende chromatische Etappe, welche aus dem vor der Verschmelzung links unten gelegenen Kerne entstammt, während die Chromatine des andern Kernes von dieser Veränderung durchaus unberührt bleiben, obwohl beide Kerne vollständig vereinigt sind.

Eines hat jedoch die Entwicklung auch der chromatischen Substanzen aller Kerne gemeinsam, sie führt zum selben Resultate, nämlich zum Zerfall (selbstverständlich nur in morphologischer Beziehung gemeint) der chromatischen Stoffe, wie wir ihn schon kennen gelernt haben. Unter Mitverwendung von diesen Zerfallsprodukten wird in einem neuen Nucleolus ein neues Chromatin erzeugt, welches nunmehr sowohl zeitlich genetisch als physiologisch gleich ist, sodaß, nachdem alles alte Chromatin zerfallen und der Nucleolus ein neues gebildet hat, auch für das Chromatin ein koordiniertes Verhalten im Kerne gegeben ist. (Für die Grundsubstanzen war dasselbe wohl schon bei der Bildung des neuen Nucleolus eingetreten.)

Was mußte nun in der Zwischenzeit mit dem alten Nucleolus geschehen sein? Wir können aus der Bildungs- und Entwicklungsweise und der Funktion des Nucleolus ableiten, daß derselbe in seiner Tätigkeit von den Umsetzungen der Kernstoffe abhängig ist. Mit diesen muß er sich in einem Gleichgewichtszustande und einer damit verbundenen Gleichgewichtslage befinden. Durch die Verschmelzung muß notwendigerweise eine völlige Verschiebung dieses Gleichgewichtes erfolgen, durch welches das Arbeitsgebiet der Nucleolen gegeben war. Die Folge ist, daß sie in ihrer Funktion gehemmt sind und zerfallen, wohingegen später, in der neu gegebenen Gleichgewichtslage, ein neuer Nucleolus entsteht. Wir haben diese Verhä tnisse bei Betrachtung der Ovogenese (spezieller Teil) in jedem einzelnen Falle durchgeführt gefunden.

Aus dieser Betrachtung der Kernverschmelzung geht hervor, daß bei derselben nicht etwa eine Vereinigung und ein zur Deckungbringen von Strukturen stattfindet. Sie ist im Gegenteil eine Summierung von Substanzen, welche samt ihren Strukturen umgebildet werden, sodaß neue an ihre Stelle treten. Durch Umbildung aus den Stoffen der alten Kerne entsteht demnach gewissermaßen der neue Kern: Die Vereinheitlichung ist dann eingetreten, wenn alle Stoffe nach einer Richtung hin umgebaut wurden und ein neuer, nunmehr gemeinsamer Kreislauf beginnt.

Das anfänglich selbstständige Verhalten der Kernstoffe verschmolzener Kerne beweisen uns auch Befunde an Hodenteilen. Im zehnten Segmente der Tiere befinden sich zur Zeit der Eibildung noch geringe Reste von Hoden. Dieselben produzieren aber keine Samenzellen mehr, sondern degenerieren. Um den Prozeß dieser Degeneration verstehen zu können, ist es notwendig, zuerst die Grundzüge der wirklichen Samenbildung kennen zu lernen. Hierzu konnte ich zwar bei *T.* (*Ilyodrilus*) *bavaricus* kein Material finden, da mir keine Exemplare im Stadium der Samenbildung vorlagen, dagegen aber bei mehreren verwandten Arten, deren Ovogenese derjenigen von *T. bavaricus* ganz ähnlich verlief. Daraus wird man schließen können, daß die Spermatogenese dieses Tieres auf die gleiche Art vor sich geht, womit auch die Befunde der Degeneration der Hodenreste völlig im Einklang stehen.

Die Samenbildung verläuft der Eibildung anfangs völlig analog, indem ebenfalls ein Teil der Zellen verschmilzt, der immer central in einem Komplexe gelegen ist. Während aber bei der Eibildung dieser Verschmelzungskomplex es ist, welcher die Geschlechtszelle liefert, dagegen die umliegenden Zellen während des Eiaufbaues unverändert ihn umschließen, findet bei der Spermatogenese direkt das Gegenteil statt. Die Zellen, welche den Verschmelzungsherd umgeben, pressen (der Ausdruck ist

selbstverständlich nur eine Verlegenheitsbezeichnung) einen Teil ihres Körpers in diesen ein und ernähren sich von ihm, während sie ihren Bildungsgang zum Spermatozoon ausführen, Synapsis (Fig. 37, Taf. XXIII), Wachstum, Reifeteilungen, Differenziation, sodaß sie als reife Spermatozoen mit den Köpfen in dem Verschmelzungsherde stecken, während die Schwänze alle herausragen. Diejenigen Elemente, welche also in der Ovogenese das Ei bildeten, führen in der Spermatogenese nie zu Geschlechtszellen, während gerade die Zellen, welche den bei der Ovogenese zuerst nicht verwendeten Teilen entsprechen, das Sperma liefern. Wir finden demnach in Ovo- und Spermatogenese denselben Prozeß, die Verschmelzung, nur in umgekehrter Anwendung. In der Ovogenese ist die Differenziation der Zellen nur eine zeitliche, indem die Zellen, welche den Verschmelzungsherd umgeben, nach Austritt des aus diesem Herde gebildeten unreifen Eies wieder zusammenschließen und einer neuen Verschmelzung Entstehung geben. Dagegen wurde die Differenziation in dem männlichen Organe zu einer vollständigen histologischen, indem die verschmelzenden Zellen den Nährkörper abgeben und die nicht verschmolzenen die Geschlechtszellen liefern.

In den degenerierenden Hodenresten ist nun das Gefüge der Zellen ein sehr lockeres, und es sind überhaupt nicht viel Zellen vertreten; das Organ ist sehr reduziert. Trotzdem macht es mindestens Versuche zur Samenbildung. Es kommt ebenfalls, wie bei normaler Spermatogenese zur Verschmelzung eines Teiles der Zellen zu einem Komplex (Fig. 38, Taf. XXIII). Da nun aber zu wenig oder gar keine Zellen vorhanden sind, welche diesen Herd follikelartig umgäben und sich von ihm ernährten, fällt offenbar hierdurch die Komponente weg, welche diese Verschmelzung aufrecht erhalten würde, und es kommt wiederum zu einem Teilungsversuch des Komplexes, mindestens zur Vorbereitung der Kernteilung. Hierbei finden wir vier Arten von Bildern. 1. Viele einfache Spindeln in einer einzigen Plasmamasse, Fig. 38, Taf. XXIII. 2. Multipolare (oft riesige) Spindeln, Fig. 39 und 40. 3. Spindeln, welche zwar ziemlich einheitlich sind, jedoch eine Unmenge von Chromosomen aufweisen, sodaß dadurch die Spindel selbst beträchtlich deformiert wird, Fig. 41. 4. Endlich einfache Spindeln, Fig. 42. Die ersteren werden wohl dadurch erklärt, daß nur das Plasma zusammengeflossen war, als der Trieb zur Teilung eintrat. Die zweite Art kann nur durch Kernverschmelzung entstanden sein und beweist uns das anfänglich unabhängige Verhalten der Kernstoffe verschiedener Provenienz. Die dritte kann ebenfalls nur aus einer Kernverschmelzung hervorgegangen sein. Für die letzte Art beweist uns die riesige Plasmamenge im Verhältnis zu wirk-

lichen Spermatogonien und auch Ovogonien (Fig. 2, Taf. XXIII), daß es sich um eine Verschmelzung handeln muß. Außerdem wäre es äußerst unwahrscheinlich, daß in diesen alten degenerierenden Teilen noch wirkliche Spermatogonien vorhanden gewesen sein sollten. Hier hätten also die Kerne die Zeit zu einer Betätigung und Umsetzung zur Vereinheitlichung gefunden, bis der Versuch einer Teilung eintrat.

Vergleichen wir das Resultat der Verschmelzung bei der vorliegenden Ovogenese mit demjenigen bei der Befruchtung, so finden wir einen großen Unterschied; in dem einen Falle keine Veränderung der Chromosomenzahl, in dem andern Summierung derselben. Dasselbe gilt für die Verschmelzung der Eier von *Ascaris*, welche zur Strassen beschrieb (Über die Riesenbildung bei *Ascaris*-Eiern. Arch. Ent. Mech. Bd. 7), ferner für die künstliche Parthenogenese des *Asterias*-Eies, infolge von Verschmelzung des Kernes des zweiten Richtungskörpers mit dem Eikern (Buchner, Paul, Die Reifung des Seesterneies bei experimenteller Parthenogenese. Arch. f. Zellf. Bd. 6). Hand in Hand mit der Verschiedenheit der Resultate geht aber auch die Verschiedenheit der Prozesse selber, welche kaum miteinander vergleichbar sind: In dem einen Falle haben wir Vereinigung von Gewebszellen, in dem andern Falle unabhängige Individuen. Vereinigung von Zellen in dem Wachstumszustande (der Möglichkeit, sich zu vergrößern, ohne Vermehrung der numerischen Eigenschaften) gegenüber Vereinigung von fertigen Gebilden, bei welchen für jedes einzelne, ohne vorherige tiefgreifende Umbildung, ein Wachstum unmöglich ist. Bei dem einen Vereinigung von Zellen inmitten ihres Tätigkeitszustandes, wobei die verschiedenen Etappen ihrer Stoffe gleichzeitig vorhanden sind, in dem andern Zusammenlegen von Organismen im Begriff ihrer Umbildung aus einem Ruhezustande, mit einer geringen Menge einer aktiven Etappe und einer großen Masse inaktiver Stoffe, welche umzubauen sind. Wie eine große Zelle durch Abteilung sich in einzelne Zellen zerlegen kann, welche eine jede, weil sie aus denselben Substanzen besteht wie das vorherige Ganze, auch dieselben Eigenschaften, mithin auch Chromosomenzahl, wie jenes aufweist, so muß sich auch ein Komplex gleichartiger Zellen zu einem einheitlichen Ganzen wieder zusammenfügen lassen, welcher, da er aus derselben Substanz wie der einzelne Teil besteht, auch wiederum dieselben Eigenschaften wie dieser besitzen muß. Denken wir uns z. B. eine Zelle, deren Eigenschaft es ist, bei Teilung 20 Chromosomen zu liefern (z. B. ein befruchtetes Ei oder irgend einen embryonalen Teil), welche sich in 64 Zellen einteilt, so wird ein jeder Teil, also jedes 64stel, auch die Eigenschaft haben, 20 Chromosomen zu bilden. Und denken wir uns eine

Zelle, ebenfalls mit der Eigenschaft von 20 Chromosomen, welche 64 mal anwächst (z. B. bei einer Eibildung), so wird sie, auch wenn sie 64 mal größer geworden ist, doch nur 20 Chromosomen liefern können. Denken wir uns nun 64 Zellen, jede zu 20 Chromosomen, und diese 64 zu einer einzigen Zelle verschmolzen, so wird auch diese 64 mal größere Zelle die gleiche Eigenschaft haben können, wie jeder Teil, demnach auch 20 Chromosomen zu liefern.

Dieses alles macht uns plausibel, daß bei der Zellverschmelzung, wie wir sie in dieser Untersuchung kennen lernten, und der Vereinigung von Ei und Sperma oder von Eiern untereinander oder von Ei und Richtungskörper, ein wesentlicher Unterschied auch in den Resultaten eintreten muß. Wenn wir uns aber nun fragen, welcher Unterschied in dem Prozesse wesenswichtig für die Differenz des Endergebnisses ist, so können wir wohl sagen, daß diese Unterschiede in den komplizierten Verhältnissen der Assimilation zu suchen sind: Bei der Verschmelzung der Ovocyten liegt im hier besprochenen Falle eine völlige Assimilation vor. Assimilation von vollständigen in sich abgeschlossenen Systemen (wie den Ovocytenzellen) wird jedoch — falls für das einzelne System überhaupt die Möglichkeit zur Vergrößerung besteht, es sich demnach auf einem Entwicklungs- und Wachstumsstadium befindet — nur möglich sein, wenn dieselben zusammen in Wechselwirkung, in Reaktion treten können. Eine solche ist aber nur denkbar zwischen von einander verschiedenen Stoffen. In einem Zellhaufen, wie ihn das Ovar von *Tubifex* darstellt, und der naturgemäß noch ungleichmäßig ernährt wird, muß, wie ich schon hervorhob, jede Zelle auf einem andern Stadium stehen. Durch die aufeinanderfolgenden Verschmelzungen können diese Unterschiede nur noch vergrößert werden. In einem verschmolzenen Komplexe sind also alle vorher freien Teile in einem verschiedenen Zustande und ihre einzelnen Stoffe sind demnach substantiell voneinander verschieden (wie wir im Verlauf der Verschmelzung auch sehen konnten, vgl. S. 349). Sie müssen folglich mit einander in Wechselwirkung treten (da es sich selbstverständlich um assimilierbare Substanzen handelt). Der eine Prozeß wird durch die Veränderung infolge der Verschmelzung gehemmt, der andre gefördert, zwischen allen Umsetzungen muß sich sodann schließlich ein Mittel bilden und hierdurch ist für das Ganze ein einheitlicher Gleichgewichtszustand erreicht. Diese Ableitungen sind mit den Befunden bei der Verschmelzung, welche wir oben besprochen haben, völlig vereinbar.

Dagegen haben wir bei der Befruchtung oder der Vereinigung von Eiern oder des Eies und Richtungskörperkerns, eine Vereinigung von in sich abgeschlossenen Systemen, welche gleich sind und auf der genau

gleichen Stufe stehen. Die Umsetzung derselben muß (es sind ja dieselben Bedingungen vorhanden) gleichzeitig erfolgen und ihre Produkte müssen demgemäß von einem zum andern stets gleich sein. Eine Wechselwirkung und Reagierbarkeit zwischen den Teilen der einzelnen Komponenten ist eben wegen ihrer Gleichheit völlig ausgeschlossen, infolgedessen verhält sich jede Komponente, wie wenn die andre nicht da wäre und macht ungestört ihren Cyklus durch. Nach Durchlaufen eines vollständigen Cyklus muß naturgemäß derselbe Zustand wie am Ausgangspunkte wieder eintreten. Daß es hierbei auf den genau gleichen Zustand an und für sich ankommt und daß nicht etwa das Chromosomenstadium für diese Art Vereinigung notwendig ist, zeigt uns die Karyomerenverschmelzung.

Es fragt sich nun, ob es nicht möglich wäre, auch in den Fällen von Befruchtung durch Samen oder Richtungskörper oder Eivereinigung durch geeignete Maßregeln eine mehr oder minder weitgehende cytologische Vereinheitlichung herbeizuführen. Ist es doch sogar möglich, Embryonen derart zu vereinigen, daß ein völlig einheitlicher Organismus daraus entsteht, wie DRIESCH nachgewiesen hat (Studien über das Regulationsvermögen der Organismen. 4. Die Verschmelzung der Individualität bei Echinidenkeimen. Arch. Entw. Mech. Bd. 10). Man müßte z. B. versuchen, durch Einwirkungen, welche auf einen der zwei zu vereinigenden Teile stärker reagieren, die Gleichheit zwischen denselben zu zerstören, sodaß sie in Wechselwirkung treten könnten. Die Versuche BUCHNERS am Ei von *Asterias* (l. cit.) speziell in betreff der lähmenden Wirkung der Kohlensäure, könnten vielleicht einen Ausgangspunkt dafür darstellen. Daß man dabei auf einigen Erfolg hoffen könnte, ließe eine Anmerkung in der betreffenden Arbeit schließen, welche besagt, daß die Chromosomenzahl infolge der Vereinigung des zweiten Richtungskörpers mit dem Eikern zur doppelten derjenigen des Eikerns wird, »soweit nicht Vielpoligkeit und andre pathologische Dinge die Chromosomenzahl irritieren«. Leider hatte ich bisher noch keine Gelegenheit, derartige Versuche zu unternehmen. Ferner hat ZUR STRASSEN nach seiner oben zitierten Arbeit bei der Vereinigung von *Ascaris*-Eiern in einem Falle völlige cytologische Vereinheitlichung gefunden, indem ein Embryo aus einem befruchteten Ei von *Ascaris megal. bivalens*, welches vorher aus Vereinigung von zwei (unbefruchteten) Eiern entstanden war, die normale Chromosomenzahl vier (anstatt sechs, wie man hätte erwarten sollen) aufwies.

Tafelerklärung.

Alle Figuren mit dem Zeichenapparat auf Objekttischhöhe projiziert. Zeiss 2 mm Apochromat und die Kompensationsoculare 2, 4, 8, 12. Wo in den Figuren nichts Besonderes angegeben ist, wurde Ocular 8 mit 1000facher Vergrößerung verwendet. Die andern Vergrößerungen wurden in lateinischen Ziffern hinter der Figurennummer angegeben: Ocular 2 = CCL, 4 = D, 12 = MD. Die Klammern um einige Figurennummern sollen angeben, daß die betreffenden Figuren mit den vorhergehenden oder folgenden in keinem Zusammenhange stehen. Schnittdicke 5 μ, außer für Fig. 72, Taf. XXV, 10 μ.

Tafel XXIII.

Die Präparate sämtlicher Figuren dieser Tafel mit Hämalaun-Eosin gefärbt außer Fig. 34*a* und *b* und Fig. 35.

Fig. 1. Beginn des Ovars am Dissepimente. Rechts von *p* je zwei Peritonealkerne mit intensiv blauen Chromatinkörnchen. Zwischen diesen die jüngsten Ovogonien mit runden, rötlich sich färbenden Chromatinkörnchen (S. 304). Rechts davon umgewandelte Ovogonien mit Netzwerk von mehr basophilem, violettem Chromatin (S. 305). Diesen Kernen liegen kalottenartig vom übrigen Plasma differente Gebilde an (S. 305 und 340).

Fig. 2. Ovogonienteilung (S. 305).

Fig. 3 bis einschließlich 19. Erste Wachstumsperiode. Nucleolenverhältnisse (S. 312—314, und 335).

In Fig. 16 rechts und Fig. 17 Abgabe von Chromatin durch den Nucleolus (S. 313).

In Fig. 19. Neubildung des Nucleolus (S. 314 und 339).

Fig. 20 bis einschließlich 30. Verschmelzungsperiode.

Fig. 20 bis einschließlich 22. Kerne einer jüngsten Verschmelzungsgruppe (der Fig. 63 und 64, Taf. XXV) (S. 314).

Fig. 23 bis einschließlich 25. Kerne einer weiter vorgeschrittenen Verschmelzungsgruppe (der Fig. 65—70, Taf. XXV) (S. 314 und 315).

Fig. 26 bis einschließlich 28. Kerne einer noch älteren Verschmelzungsgruppe (der Textfig. 1—6, S. 309).

In Fig. 26 Umwandlung des Chromatins in dem unteren Kerne, welcher aus zwei kürzlich verschmolzenen Kernen besteht, und zwar geht diese Umwandlung nur in dem einen Kernteile vor sich, den Rest, von einem anderen Kerne stammenden Teil, nicht berührend. Dieses beweist, daß durch die bloße Verschmelzung der Kern nicht einheitlich geworden ist (S. 316 und 349).

Fig. 27 und 28. Aufeinanderfolgende Schnitte durch denselben Kern. In Fig. 27 Neubildung eines Nucleolus, in Fig. 28 die Reste der alten (S. 315).

Fig. 29. Ein Kern der Verschmelzungsgruppe der Textfig. 7—11, S. 309, die Auflösung der Nucleolen und Veränderungen des Chromatins zeigend (S. 317).

Fig. 30. Einziger Kern einer Verschmelzungsgruppe, durch Verschmelzung von allen Kernen der Gruppe entstanden (S. 317). (Der ganze Ovarialkomplex in Fig. 32 wiedergegeben.)

Fig. 31. Kern in einer Verschmelzungsgruppe, das Zerfließen des Nucleolus zeigend (S. 315).

Fig. 32. Übersicht durch einen Ovarialteil. Links ein aus dem Zellverbande ausgetretenes unreifes Ei (S. 317), inmitten der Ovocyten ein Verschmelzungsherd nach beendigter Kernverschmelzung.

Fig. 33. Nucleolen die Vereinheitlichung in ihrer Konfiguration zeigend (S. 335 und 339).

Fig. 34 *a*. (Safranin-Gentianaviolett-Lichtgrün.) Chromosomenbildung im Hoden (S. 339).

Fig. 34 *b*. (Eisenhämatoxylin.) Chromosomenbildung in Ovogonien (S. 339).

Fig. 35. (Safranin-Gentianaviolett-Lichtgrün.) Apponierte Nucleolen (Stadium der Fig. 44, Taf. XXIV) (S. 334).

Fig. 36. Teilung in einer Darmzelle eines *Limnodrilus*. Nur ein Teil des Kernes wird zur Teilungsfigur verwandt (S. 343).

Fig. 37. Etappe in normaler Samenbildung bei Tubificiden (S. 351).

Fig. 38 bis einschließlich 42. Degenerative Veränderungen in den Hodenresten während der Eibildung. Dieselben beweisen die anfängliche Selbständigkeit der einzelnen Teile in einem durch Verschmelzung entstandenen Kerne (S. 351).

Tafel XXIV.

Wachstumsperiode des aus der Verschmelzung hervorgegangenen, unreifen Eies bis zur Spindelbildung.

Fig. 43. (Hämalaun-Eosin.) Umordnung des Kernes (S. 318). Um denselben beginnt sich eine plasmatische Schicht abzuscheiden (S. 319 und 340).

Fig. 44. (Hämalaun-Eosin.) Weiter vorgeschrittenes Stadium (S. 318). Bildung eines apponierten Nucleolus (S. 334).

Fig. 45 und 46. (Hämalaun-Eosin.) Aufeinanderfolgende Schnitte. Beginn des Zerfalls des Doppelnucleolus (S. 319).

Fig. 47. (Hämalaun-Eosin.) Vorgeschrittener Zerfall des Nucleolus (S. 319).

Fig. 48 und 49. (Hämalaun-Eosin.) Aufeinanderfolgende Schnitte. Beendigter Zerfall des Nucleolus (S. 319 und 323).

Fig. 50, 51 und 52. (Safranin-Gentianaviolett-Lichtgrün.) Aufeinanderfolgende Schnitte. Bildung einer neuen Nucleolengeneration (S. 321, 333 und 347). (Durch Safranin wurde das Grundwabenwerk des Kernes gefärbt, durch Gentiana der den Nucleolus umgebende dünne Saum neugebildeten Chromatins, durch Lichtgrün das im Kern zerstreute alte Chromatin und die Dotterkörnchen.) In Fig. 51 weist die Kernmembran ein Wabenwerk auf (S. 313).

Fig. 51*a*. (Safranin-Gentianaviolett-Lichtgrün.) Junge Ovocyte den Nucleolus im gleichen Stadium wie das unreife Ei der Fig. 51 zeigend (S. 322).

Fig. 53. (Carmin nach Mayer) und 54 (Lichtgrün). Fortschreitende Stadien der Ausbildung des Nucleolus (S. 322 und 323).

Fig. 55. (Carmin nach Mayer.) Reifer Nucleolus (S. 323).

Fig. 56 und 57. (Carmin nach Mayer.) Entleerung des Nucleolus (S. 323, 332, 335 und 347).

Fig. 58. (Safranin-Gentianaviolett-Lichtgrün.) Die dem Nucleolus entstammende chromatische Schleife ist schon aufgelöst worden (S. 323), der Kern weist, außer dem Grundwabenwerk mit den kleinsten Bläschen, keine geformten Elemente mehr auf (S. 324, 332, 340, 347).

Fig. 59 und 60. (Hämalaun-Eosin.) Drei aufeinanderfolgende Schnitte. Bildung der letzten Nucleolengeneration als zusammengesetzter Nucleolus (S. 324, 335 und 340).

Fig. 61. (Hämalaun-Eosin.) Weiter vorgeschrittener Nucleolus, das Kernplasma völlig homogen aussehend (S. 325 und 332).

Fig. 62. (Hämalaun-Eosin.) Abgabe des Chromatins von dem Nucleolus an den Kern (S. 325, 335 und 338).

Fig. 62*a*. (Hämalaun-Eosin.) Dieselbe weiter vorgeschritten, auch die centralen Nucleolen haben sich zu entleeren begonnen (S. 326).

Tafel XXV.

Fig. 63. (Hämalaun-Eosin.) Junge Verschmelzungsgruppe. Rechts in der Gruppe beginnen zwei Kerne zu verschmelzen, links ist die Verschmelzung für zwei Kerne eben beendet, der größere obere Kern ist ebenfalls aus einer Verschmelzung hervorgegangen (S. 308). Links oben ein unreifes Ei, welches aus dem Verbande der Ovocyten austrat und ganz zu Beginn seiner Wachstumsperiode steht. Um den Kern hat gerade ein dünner Saum neuen Plasmas sich abzuscheiden begonnen (S. 319 und 340). Links seitlich liegt dem Ovar ein größeres unreifes Ei an, von dem nur ein kleines Stückchen auf der Figur sichtbar ist.

Fig. 64. (Hämalaun-Eosin.) Nächster Schnitt durch die Verschmelzungsgruppe der Fig. 63 (S. 308).

Fig. 65 bis einschließlich 70. (Hämalaun-Eosin.) Aufeinanderfolgende Schnitte einer Verschmelzungsgruppe (S. 308).

In Fig. 65 sind nur die Ovocyten, welche den Verschmelzungsherd umgeben, getroffen. Dem Ovarialkomplexe liegt ein unreifes Ei, in der Mitte seiner Wachstumsperiode, an. Um den Kern hat sich eine breitere Schicht neuen Plasmas als Wachstumszone differenziert (S. 320 und 340).

In Fig. 66—68, welche den Verschmelzungsherd, umgeben von den Ovocyten, darstellen, ist das unreife Ei nur in Konturen angegeben. Nur in Fig. 66 ist die Plasmastruktur eingezeichnet.

Fig. 69 und 70 geben nur den Verschmelzungsherd wieder, die umgebenden Ovocyten wurden in den Figuren weggelassen (S. 308).

Fig. 71. (Carmin nach Mayer.) Unreifes Ei gegen Ende der Wachstumsperiode. In der Plasmazone um den Kern liegen eine Menge runder Körnchen, welche offenbar mit der Dotterbildung in Beziehung stehen (S. 320).

Fig. 72. (Hämalaun-Eosin.) Die Zahl der Körnchen und die sie enthaltende Plasmaschicht hat stark zugenommen (S. 320 und 340).

Fig. 73. (Hämalaun-Eosin.) Die Dotterbildung hat von der Peripherie aus gegen den Kern eingesetzt. Eine Zone um den Kern ist davon noch unberührt (S. 321).

Fig. 74. (Hämalaun-Eosin.) Die Dotterbildung ist bis zur Kernmembran vorgeschritten (S. 321).

Tafel XXVI.

Reifespindel. Färbung der Präparate sämtlicher Figuren mit Hämalaun-Eosin (Tuschezeichnungen).

Fig. 75 und 76. (Aufeinanderfolgende Schnitte.) Das Stadium dieser Spindel dürfte, was die Chromosomenbildung anbetrifft, wohl zwischen demjenigen der Spindel Fig. 79 und 80 und der Spindel Fig. 84 liegen. Da jedoch das Präparat durch Alkohol

geschrumpft ist, läßt es sich nicht mit voller Sicherheit verwenden. Die chromatischen Verhältnisse dürften jedoch weniger davon berührt sein.

Fig. 77 bis einschließlich 83. Aufeinanderfolgende Schnitte durch eine junge Reifespindel. In Fig. 79 und 80 sieht man die chromatischen Körnchen, welche noch nicht zu Chromosomen gruppiert sind (S. 339). Fig. 81 zeigt, wie das Schaumwerk der in das Ei auswachsenden Teile der Centrosphären und des peripheren, die Chromosomenspindel umgebenden Kernplasmas (S. 326 und 341) gleichsam ein Gitterwerk um die Spindel bildet. In Fig. 83 erkennt man, wie ein Teil dieses Schaumwerks in seinem Verlauf von einer Gruppe von Dotterkörnchen aufgehalten wird und sich um dieselbe herumschlingt (S. 327).

Fig. 84. Zwei aufeinanderfolgende Schnitte durch einen Teil einer älteren Reifespindel, die ausgebildeten Chromosomen zeigend (S. 327).

Fig. 85. Ein Schnitt durch die Spindel der Fig. 84, das Auswachsen derselben und die Auflösung des Dotters zeigend (S. 327 und 341).

Tafel XXVII.

Sämtliche Figuren nach Eisenhämatoxylin-Präparaten, außer Fig. 90 (Carmin nach Mayer).

Fig. 86. Kernstadium: ausgebildeter Nucleolus der vorletzten Generation (S. 323). Über das Kernplasma S. 332 und 347. Die Dotterbildung ist noch nicht beendet (S. 303 und 321).

Fig. 87 und 88. Aufeinanderfolgende Schnitte. Entleerung des vorletzten Nucleolus (S. 323). Dotterbildung beendet (S. 303 und 321).

Fig. 89. Dasselbe Stadium wie Fig. 88. Über das Kernplasma beider Figuren S. 332.

Fig. 90. Das aus dem Nucleolus ausgestoßene Chromatin hat, nach einer partiellen Umbildung, die Gestalt chromatischer Schleifen (S. 323 und 338).

Fig. 91 und 92. Umbildung des, dem Nucleolus entstammenden Chromatins zu Kernplasma. In Fig. 91 sind in demselben noch chromatisch tingierbare Teilchen vorhanden, in Fig. 92 sind sie bis auf einige Körnchen verschwunden und die umgebildete chromatische Schleife geht völlig in die Grundsubstanz des Kernes über (S. 323, 324, 331, 336 und 348).

Fig. 93 bis einschließlich 106. Synapsis und Auflösung derselben (S. 306).

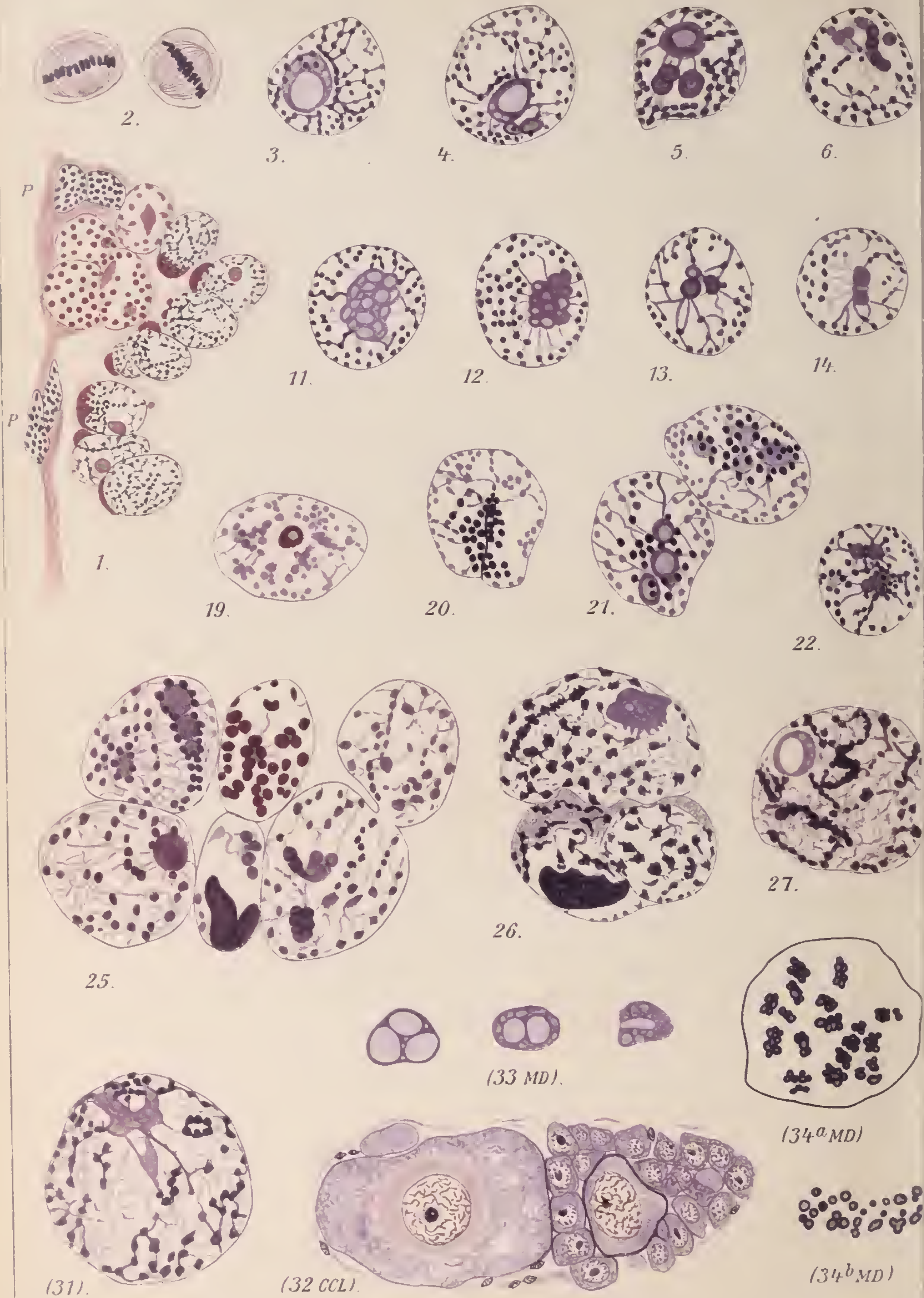
Fig. 99, 100, 101, 102. Ausragen eines Kernteiles oder einer chromatischen Schleife aus dem Kerngebiete (S. 306).

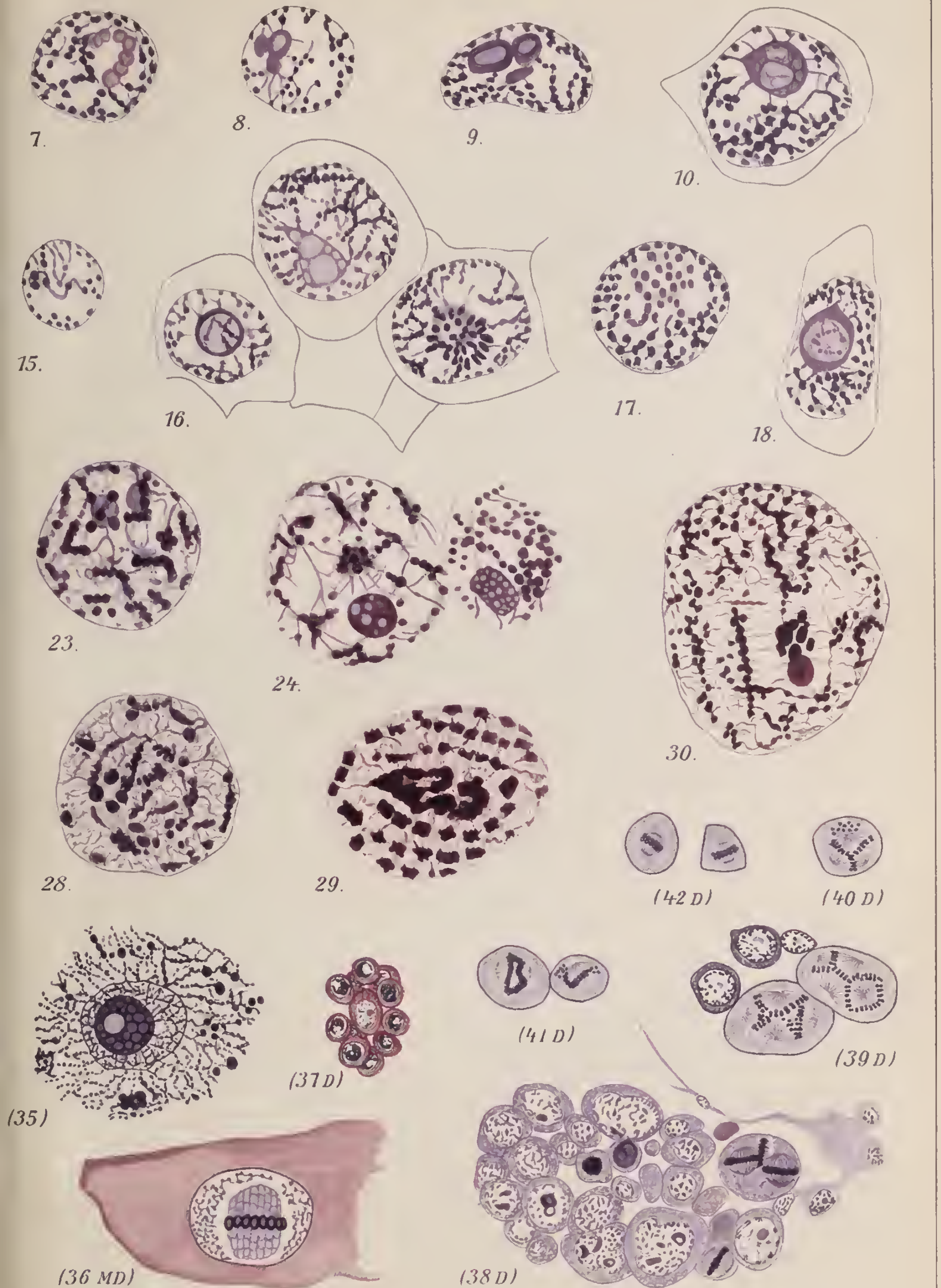
Fig. 109, 104, 105, 106 und 100. Abschnürung oder abgeschnürte kleine Kerne bei Umbildung der Synapsis (S. 306 und 307).

Fig. 107 und 108. Zellen nach Umbildung der Synapsis. Sie zeigen, daß nach derselben in jeder Zelle einige chromatisch tingierbare Körnchen im Plasma liegen (S. 306).

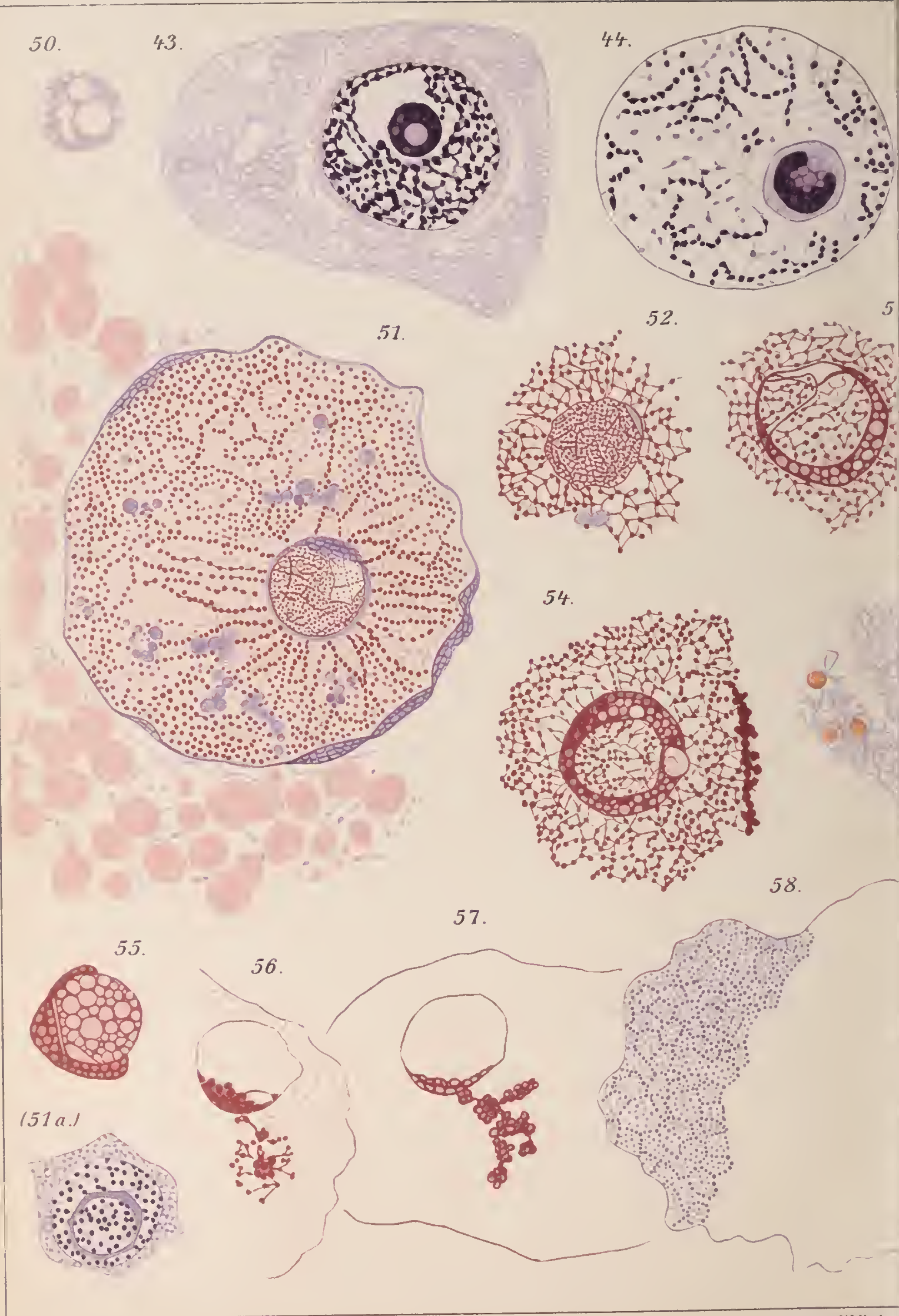
Fig. 109. Amitotische Teilung inmitten von Synapsiskernen (S. 307).

Fig. 110, 111 und 112. Nucleolen mit verschiedenem Chromatingehalt. Sie beweisen, daß das Grundwabenwerk des Kernes in den Nucleolus übergeht und sich in diesem fortsetzt (S. 334).


P
P
1.
2.
3.
4.
5.
6.
11.
12.
13.
14.
19.
20.
21.
22.
25.
26.
27.
(33 MD).
(34a MD)
(31).
(32 CCL).
(34b MD)



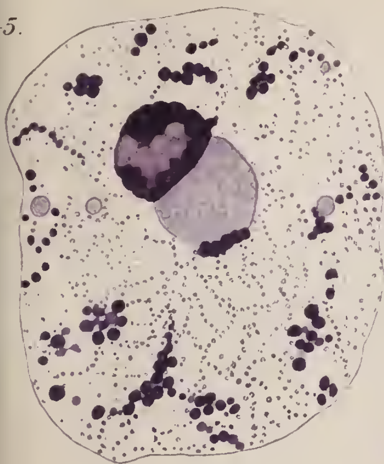
nann in Leipzig und Berlin.
Lith Anst.v. Johannes Arndt, Jena



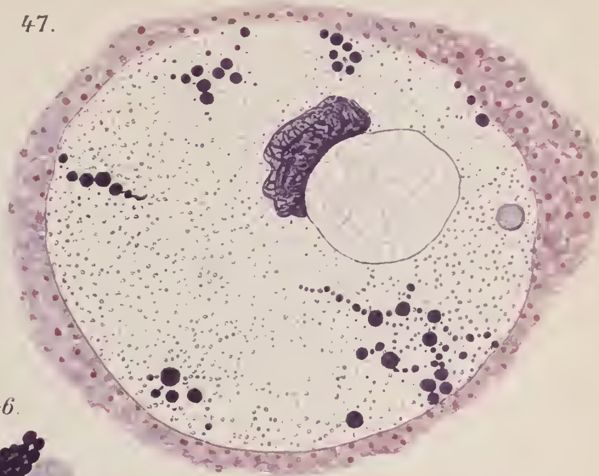
Oschmann gez.

Verlag von Wilhelm

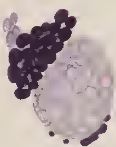
45.



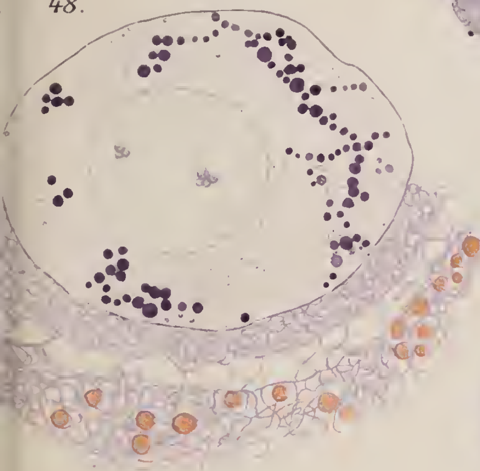
47.



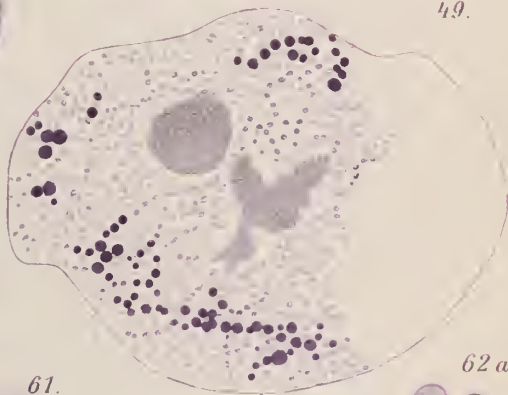
46.



48.



49.



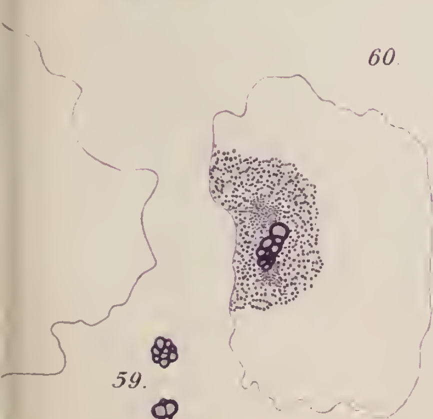
61.



62 a.



60.



59.



62.



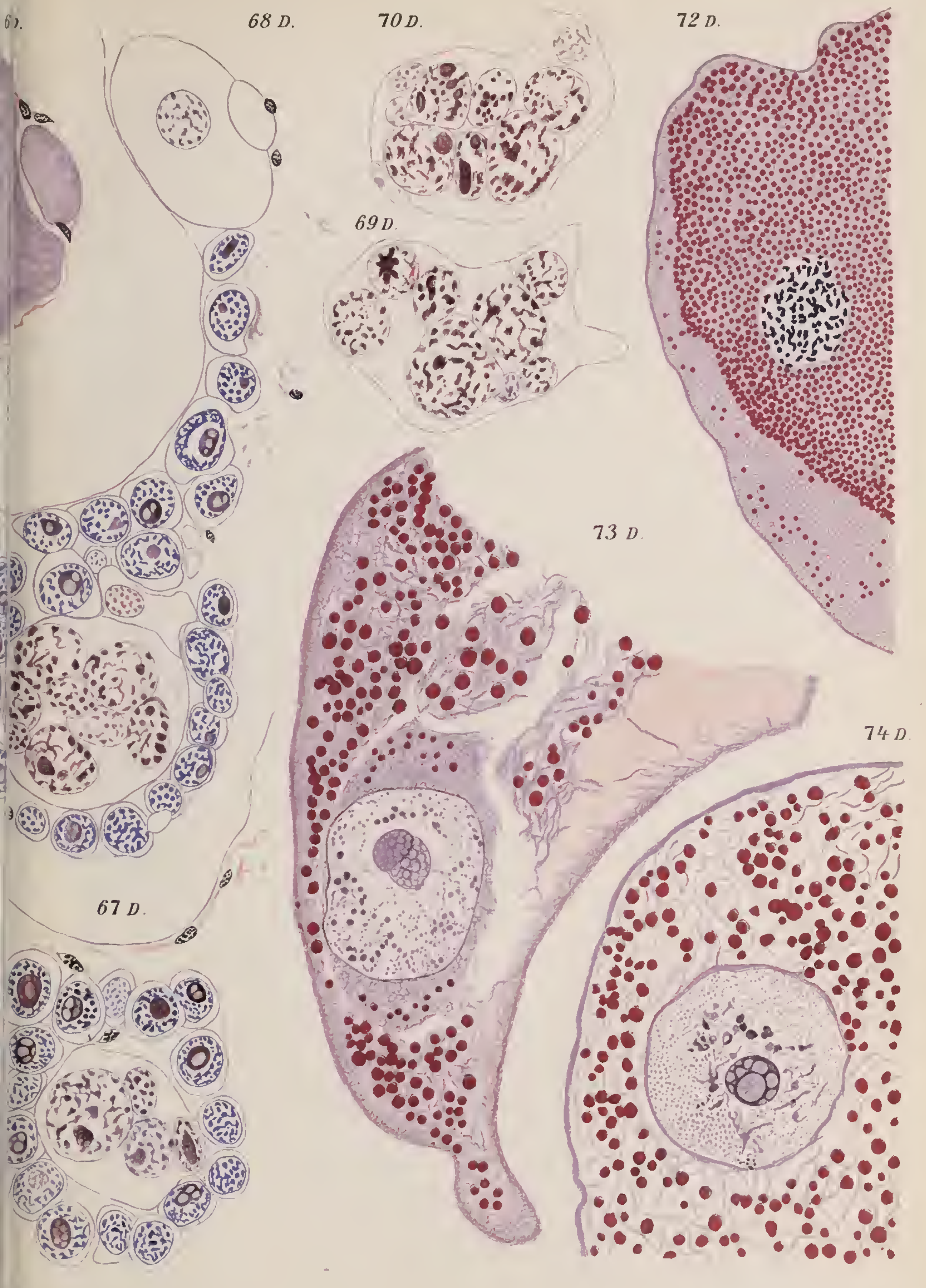
elmann in Leipzig und Berlin

Lith Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



Oschmann gez.

Verlag von Wilhelm

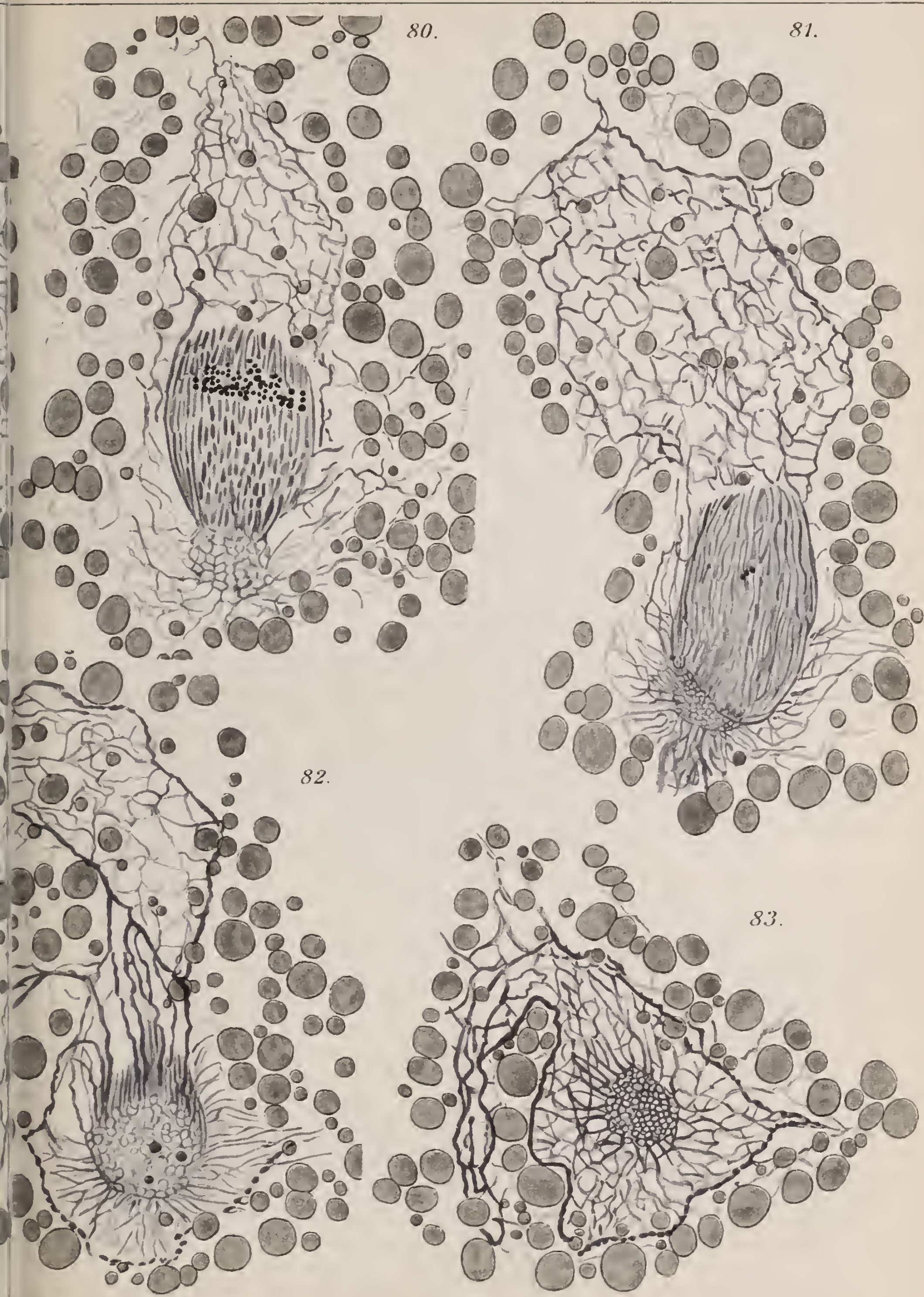


[...]elmann in Leipzig und Berlin.
Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

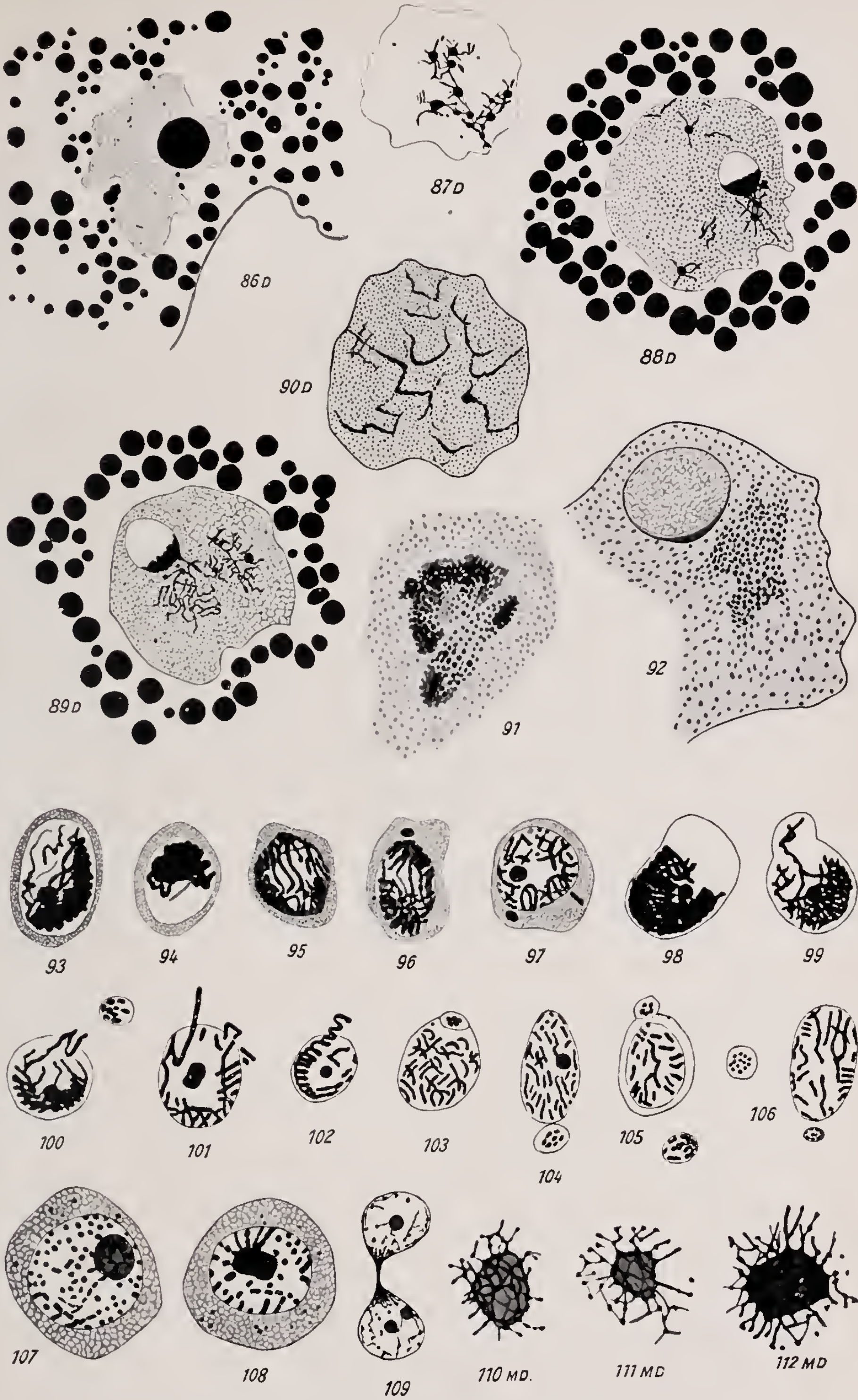


Oschmann gez

Verlag von Wilhelm E



E[...]mann in Leipzig und Berlin. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.


86 D
87 D
88 D
90 D
89 D
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110 MD.
111 MD
112 MD

Über die Prophasen der ersten Reifeteilung in Pollenmutterzellen, insbesondere bei Thelygonum Cynocrambe L.

Von

Hans Schneider.

Mit Tafel XXVIII.

In der Frage nach der Bildung der diakinetischen Doppelchromosomen stehen sich ((wenigstens in der botanischen Cytologie) hauptsächlich die »Faltungs«- und die »Junktions«theorie gegenüber. Mit Bezug auf die Stellungnahme zu den durch diese Schlagworte gekennzeichneten Ansichten lassen sich allgemein zwei Richtungen unterscheiden. Während manche die eine oder die andre Theorie als allein richtig betrachten, neigen neuerdings verschiedene Forscher mehr der Annahme zu, daß beide Weisen der Doppelchromosomenbildung nebeneinander, aber sich gegenseitig für ein bestimmtes Objekt ausschließend, im Pflanzenreich verwirklicht seien. Diese zweite Richtung findet eine ihrer besten Stützen in der Tatsache, daß ein so guter Beobachter wie Yamanouchi bei *Nephrodium molle* (08) und bei *Osmunda cinnamomea* (10) die Doppelchromosomen durch Parasyndese, bei *Fucus* (09) dagegen durch Metasyndese entstehen läßt.

Für die Entscheidung zwischen den beiden Richtungen, wie überhaupt für die Erforschung der geschlechtlichen und der an diese geknüpften Vorgänge (vgl. E. Strasburger 94, 09, 10a) ist nach meiner Ansicht die phylogenetische Betrachtungsweise von größter Bedeutung.

Die Reduktion der Chromosomenzahl ist ja (was vielleicht Betonung verdient, da dieser Gesichtspunkt nur selten berücksichtigt zu werden pflegt) tatsächlich nicht nur ein ontogenetisches, sondern doch auch ein phylogenetisches Problem. Geschlechtliche Sonderung, Befruchtung, Reduktionsteilung: das sind die Fortschritte, die in den Gruppen lebender Wesen mit merkwürdiger Analogie eintreten und zur Ausbildung und schließlichen Herrschaft der diploiden Generation führten. Aber es handelt sich doch hier nur um Analogie, denn sicherlich ist dieser Entwicklungs-

fortschritt im Laufe der Stammesgeschichte (— ich habe die der Pflanzen im Auge —) nicht einmal, sondern öfter und unabhängig von seinem sonstigen Eintreten getan worden. Daher braucht es nicht zu verwundern, wenn sich zeigt, daß dasselbe Ziel, die Herabsetzung der diploiden Chromosomenzahl auf die ursprüngliche haploide, nicht überall auf völlig gleiche Weise erreicht wird. Viel eher sollte unsre Verwunderung der Tatsache gelten, daß die betreffenden Vorgänge auch als bloße Analoga (infolge der Eigenschaften des lebenden Substrates, wie STRASBURGER annimmt) in so vielem übereinstimmen. Von hier aus erscheint der Ausspruch TISCHLERS[1]) (10, S. 656), »daß tatsächlich eine große Einheitlichkeit im Verlaufe der Reduktionsteilung im Tier- und Pflanzenreiche« stattfinde »und die eine solche Einförmigkeit noch ausschließenden Angaben auf unrichtige Deutung der mikroskopischen Bilder zurückzuführen« seien, in seinem zweiten Teil als zu weit gehend, und das Bemühen, die Reduktionsvorgänge für alle Lebewesen einem einzigen Schema unterzuordnen, als wahrscheinlich wenig aussichtsreich, wenn auch heuristisch wertvoll. Von diesem Gesichtspunkt aus sind auch die Angaben YAMANOUCHIS wohl verständlich. (Ob seine Deutungen im einzelnen richtig sind, ist eine Frage, von der hier natürlich ganz abgesehen werden kann.) Die Möglichkeit der Verschiedenheit in den Reduktionsvorgängen bei Farnen und Braunalgen liegt jedenfalls auf der Hand, da ja die phylogenetische Systematik bisher für die Phaeophyten keine sicheren Beziehungen zu den Cormophyten hat nachweisen können und es überhaupt fraglich erscheint, ob letztere an lebende Vertreter der Thallophyten sich anknüpfen lassen (vgl. WETTSTEIN 11, S. 103 u. 234).

Andrerseits gestatten dieselben phylogenetischen Erwägungen starke Zweifel an der Richtigkeit der neuerdings geäußerten Meinung, daß bei den Angiospermen, also innerhalb einer phylogenetisch streng geschlossenen Gruppe, verschiedene Arten der Reduktionsteilung nebeneinander statthaben könnten, einer Meinung, die z. B. GATES (09, S. 195) mit den Worten ausdrückt: "Evidence from this and other work shows that there are two general methods of chromosome reduction in plants, one involving a side-by-side pairing of chromatin threads (parasynapsis) to form a double spirem, the other involving an end-to-end arrangement (telosynapsis) of the maternal and paternal chromosomes to form a single spirem, which may split longitudinally." Sie führen uns vielmehr notwendig zu der Ansicht, daß Faltungs- und Junktionstheorie sich nicht nur für die einzelne Pflanze, sondern wenigstens innerhalb des Stammes

---

1) Wie aus einem Referate TISCHLERS über die unten zitierte Arbeit von DAVIS (11) in Archiv f. Zellforschung zu ersehen ist, hat er seine Meinung neuerdings geändert.

der Cormophyten überhaupt ausschließen, daß also hier (wenn überhaupt eine von ihnen richtig ist) nur eine der beiden Theorien zu Recht bestehen kann.

Ähnlichen Gedanken, wenn auch ohne diese spezielle Anwendung, gab E. Strasburger (00, S. 215) folgendermaßen Ausdruck:

»Mit Bestimmtheit scheint mir ein Überblick des ganzen Gebiets . . . zu ergeben, daß die Übereinstimmungen, welche die Karyokinese der höheren Pflanzen und höheren Tiere bietet, nicht auf Homologie, d. h. auf der Übereinstimmung der Vorgänge bei gemeinsamen Vorfahren beruht, sondern nur auf Analogie, d. h. auf übereinstimmenden Auslösungen, welche auf einer gewissen Stufe der phylogenetischen Entwicklung an der lebendigen Substanz sich vollzogen. Die gewonnene Höhe der Organisation des Protoplasten schuf die Bedingungen, welche den Eintritt bestimmter Gestaltungsvorgänge veranlaßten. So allein ist es zu begreifen, daß nicht nur die Vorgänge der typischen Karyokinese, sondern auch die . . . atypischen Kernteilungen bei Metaphyten und Metazoen in so ähnlicher Weise sich vollziehen. — Dabei bestehen aber auch Unterschiede, wie sie eben die unabhängige Ausbildung unter verschiedenen Bedingungen mit sich bringt. Daher ist nicht zu verlangen, daß in allen Punkten Übereinstimmung herrsche . . .« Diese Bemerkungen, meine ich, lassen sich ohne weiteres auch auf die verschiedenen Gruppen innerhalb des Pflanzenreichs übertragen.

Meine Ansicht geht also dahin, daß sehr wohl verschiedene Reduktionsmodi im Pflanzenreich vorkommen können, aber nicht innerhalb des engeren Kreises der Cormophyten.

Ich weiß es wohl, daß heute viele Forscher sich Erörterungen obiger Art gegenüber skeptisch verhalten, weil ihnen das phylogenetische System des Pflanzenreichs noch nicht sicher genug begründet erscheint, um von seinem Boden aus Schlüsse zu ziehen. Vorläufig scheint mir aber meine Annahme vorsichtiger und berechtigter zu sein, als die zweier nebeneinander vorkommender Reduktionsmodi, auch deshalb, weil diese letztere auf einem methodologischen Fehler beruht. In der Tat, wäre von vornherein, und von mehreren Untersuchern, bei der einen Pflanze der Junktionsmodus, bei der andern der Faltungsmodus (in dieser oder jener Form) in der Reduktionsphase gefunden worden, so würden wir uns damit abzufinden und die Auffassung von Gates zu akzeptieren haben. Indessen liegt die Sache doch so, daß beide Vorstellungen über den Reduktionsvorgang auf Beobachtungen an zum Teil den selben Pflanzen gestützt worden sind; und daß die gleiche Pflanze das eine Mal so, das andre Mal anders die Reduktion vollziehen sollte,

ist doch wohl nicht anzunehmen. So ist es eben die Frage, ob die beiden Theorien auf reinen Tatsachen aufgebaut sind. —

Bei den folgenden Bemerkungen werde ich hauptsächlich Bilder in Betracht ziehen, die mir bei der Untersuchung von *Thelygonum Cynocrambe* L. in den Pollenmutterzellen entgegentraten (Taf. XXVIII). Die Figuren 1—7 stellen einige Stadien bis zur Synapsis dar. Sie zeigen die Entstehung der Chromatinfäden und ihren Parallelverlauf. Bemerkenswert ist, daß die Fadenbildung von einem Punkte ausgeht, der in der Nähe des Nucleolus zu suchen ist. Daraus ergibt sich die Polarität des Fadensystems, die in Fig. 2 und 3 deutlich zu erkennen ist. — In Fig. 4 und 7 fällt auf, daß der Nucleolus an einer Seite eine Papille hat, eine Erscheinung, die schon häufiger beschrieben worden ist und zu verschiedenen Spekulationen über ihre Entstehung Anlaß gegeben hat. Da ich in den Fällen, wo sie mir begegnete, immer feststellen konnte, daß der Rand der »Papille« glatt und fast kreisbogenförmig war, möchte ich im Anschluß an Miyake (05, S. 92) und Gates (08) die Meinung vertreten, daß es sich einfach um enge Aneinanderlagerung, vielleicht auch beginnende Verschmelzung zweier Nucleolen handelt. Es liegt keine Veranlassung vor, als Ursache eine durch das Fixiermittel herbeigeführte »tropfenweise Ausquetschung des weicheren Inhalts« des Nucleolus zu betrachten, wie Lagerberg (09, S. 25) will, oder den Nucleolus anzusehen als "the store-house for chromatin, which it deburses by exuding droplets of its substance into the nuclear cavity" (Digby 12, S. 363). Dafür kommt die Erscheinung nach meiner Erfahrung nicht häufig genug vor.

Bekanntlich ist es noch immer unentschieden, ob die synaptische Kontraktion natürlich ist oder durch Einwirkung der Fixiermittel herbeigeführt wird. Unter denen, die die Synapsis als natürliche Folge der im Kern sich abspielenden Vorgänge ansehen, nimmt A. A. Lawson eine besondere Stellung ein. Er schreibt (11, S. 602): "My interpretation of the phenomena known as synapsis is simply that it represents a growth-period of the nucleus — a condition that is in harmony with the peculiar organization of sporemothercells. It is a period during which the increasing karyolymph exerts a great osmotic pressure from within. This pressure results in the extension of the nuclear cavity towards an interspace where there is least resistance from the neighbouring cells. The chromatin mass is left behind, and its characteristic position at one side of the nuclear membrane is a perfectly natural one." Wie man sieht, liegt hier eine von theoretischer Begründung begleitete Verwertung der bereits früher gemachten Beobachtungen über die Vergrößerung des Kernraumes während

der Prophasen vor, welche schon vorher GRÉGOIRE (10, S. 335) zum Teil für die Auffälligkeit der Kontraktion verantwortlich gemacht hatte: «l'agrandissement que subit certainement en ce moment la cavité nucléaire est de nature à faire paraître plus accentué qu'il ne l'est en réalité le ramassement des anses pachytènes».

In der Tat ist die Größenzunahme der Kerne bis zum Synapsisstadium oft beträchtlich. Und es muß ferner ohne weiteres zugegeben werden, daß die Größenschwankung für die LAWSONsche, bestechend einfache Hypothese sprechen kann. So fand ich z. B. als Mittel zahlreicher Messungen an Kernen von *Allium cepa* folgende Zahlen[1]):

	Durchmesser:
Prosynapsis (Fädchenbildung) . . .	18,9 μ
Synapsisknäuel	21,3 »
Ungespaltenes Spirem	18,2 »
Sich spaltendes Spirem	17,8 »
Gespaltenes Spirem	17,8 »
Diakinese	17,5 »

Der Kern von *Allium* ist also tatsächlich während der Synapsis am größten; auf den späteren Stadien nimmt sein Volumen ab, wie es die Theorie verlangt. Ist dem aber immer so? Die ausgezeichneten, bei gleicher Vergrößerung gezeichneten Figuren in LAGERBERGS *Adoxa*-Arbeit (09) zeigen zunächst, daß die Kerne von *Adoxa* im Zygonemastadium und schon vorher nicht kleiner sind als im ausgeprägtesten Synapsisknäuel (vgl. seine Fig. 4—6). Das ist der LAWSONschen Auffassung schon nicht günstig. Ich maß ferner bei *Tradescantia*, in derselben Weise wie bei *Allium*, Prophasenkerne mit folgendem Resultat:

	Kerndurchmesser:
Synapsis	22,2 μ
Pachynema . . .	22,4 »
Strepsinema . . .	23,1 »

Hier also nehmen die Kerne, wenn auch nur wenig, nach dem Synapsisstadium an Größe zu; und so ist es auch bei *Thelygonum*, wo das

[1]) Die mir vorliegenden Schnitte waren 8 μ dick; also waren die Kerne durchschnitten. Um trotzdem sichere Zahlen zu bekommen, wählte ich stets etwa zehn der größten Kerne des betreffenden Entwicklungszustandes in jeder Anthere, d. h. also die, welche mir ihren größten Kugelkreis zeigten. Für jedes Stadium wurden so etwa 110—130 Kerne gemessen. Bei Kernen mit elliptischem Querschnitt wurde dabei als Durchmesser das arithmetische Mittel des langen und kurzen Durchmessers gesetzt.

allerdings sehr geringe Wachstum bis zur Diakinese anhält. (Bei *Tradescantia* stand mir leider dies Stadium nicht zur Verfügung.) Nach Lagerberg (l. c., S. 29) vergrößert sich auch bei *Adoxa* der Kern vom Ruhezustand bis zur Diakinese, und zwar soviel, daß sein Durchmesser verdoppelt wird.

Wie will nun in solchen Fällen[1]) Lawson die Ausknäuelung des Synapsisknotens erklären? Hier muß seine Theorie, wenn nicht Hilfsannahmen gemacht werden, versagen, weshalb sie denn auch für die ihr günstigeren Fälle nicht zutreffen kann.

Noch ein andrer Umstand, auf den Th. Stomps (10) besonders nachdrücklich hingewiesen hat, spricht gegen Lawsons Theorie. Während des Synapsisstadiums liegt nämlich der Nucleolus nicht mehr, wie vorher, innerhalb des Fadengewirrs, sondern außerhalb des synaptischen Knäuels, meist nur in loser Verbindung mit ihm und der Kernmitte genähert (Fig. 4, 7). Wenn aber, wie Lawson annimmt, schon das zarte Fadenwerk bei der osmotischen Ausdehnung der Kernhöhle zurückgelassen wird, sollte das doch in weit größerem Maße für die kompakte Masse des Nucleolus der Fall sein, und diese dürfte demnach nicht nahe der Mitte des Kernes, durch den Synapsisknäuel von der Kernbegrenzung getrennt liegen. Hingegen erklärt sich diese Tatsache leicht durch die ältere Annahme einer — aktiven oder passiven — Kontraktion der Fadenmasse, die den Nucleolus in Ruhe läßt, so daß er seinen ursprünglichen Platz beibehält. — Die oft kugelige Gestalt des Synapsiskerns steht auch mit der einseitigen Ausdehnung der Kernhöhle, wie sie doch durch die stets einseitige Lagerung des Synapsisknäuels verlangt wird, nicht recht in Einklang.

Aus all diesen Gründen scheint mir die Theorie Lawsons nicht den Anspruch erheben zu können, das Synapsisproblem gelöst zu haben.

Wie man aus dem relativ häufigen Vorkommen der Fadenknäuel schließen kann, ist die Synapsis ein Zustand, der recht lange dauert. Nach Strasburger (09, S. 95) mag »die Durchführung der Paarungen unter den homologen Chromosomen« diesen Zeitaufwand bedingen. Man könnte sich auch vorstellen, daß die Umstimmung der Fädchen, welche erfolgen muß, um ihnen die sich bald äußernde Tendenz zur Ausknäuelung mitzuteilen, diese Zeit einer gewissen Ruhe verlange. Diese Vorstellung würde wenigstens den Vorzug haben, weniger hypothetische Elemente in sich zu bergen. Strasburger selbst hat sie ja auch (a. a. O.) für das Stadium der Kernplatte bei somatischen Teilungen entwickelt. Voraussetzung ist dabei, daß die Synapsis kein Kunstprodukt darstellt, was bekanntermaßen noch nicht feststeht.

---

[1]) Vgl. hierzu die Bemerkungen von Br. M. Davis (11, S. 964).

Bei der Entwirrung des Synapsisknäuels kommen Schlingen zutage (Fig. 7), die sich allmählich verlängern (Fig. 8) und schließlich wieder den Kernraum durchziehen (Fig. 9). Es zeigt sich, daß die Dicke dieser Fadenschlingen bedeutend größer ist als die der präsynaptischen Fäden. Damit ist das Pachynemastadium erreicht. Der Übergang von den parallelen präsynaptischen Fäden zu den dicken Spiremschlingen vollzieht sich also bei *Thelygonum* während der dichten Zusammenknäuelung der chromatischen Substanz. Ein Einblick in die Art dieses Übergangs ist daher bei der Pflanze schwer zu gewinnen. Insofern ist sie also ein ungünstiges Objekt. Immerhin sieht man an einzelnen Kernen, z. B. an dem in Fig. 7 dargestellten, noch während der Ausknäuelung ganz deutlich doppelte Schlingenstrecken, die man späterhin (Fig. 8, 9) nicht mehr wahrnimmt. Dies läßt den Schluß zu, daß das Pachynema sich durch Parasyndese aus den präsynaptischen parallellaufenden Fäden (Zygonema) bildet.

Bekanntlich herrscht unter den Cytologen, die für Parasyndese eingetreten sind, keine Einigkeit darüber, ob die korrespondierenden Fäden jedes Paares getrennt bleiben (Grégoire 07, 10; Yamanouchi 10, u. a.), oder ob eine mehr oder minder weitgehende Verschmelzung erfolgt. Strasburger (08) wirft gegenüber Grégoires Auffassung die Frage auf, wozu denn alle die Veränderungen dienen sollten, die die Chromosomen bis zu diesem Augenblick schon hätten durchlaufen müssen. Dieser Einwand ist natürlich unberechtigt. Man kann doch nicht theoretische Vorstellungen, die man sich auf grund von — vielleicht richtigen — Beobachtungen gebildet hat, zur Kritik ins Feld führen gegen Ansichten, die gerade jene Beobachtungsgrundlage als unsicher betrachten. Übrigens bricht Grégoire dem Einwurf Strasburgers auch die Spitze ab: «Il est toutefois loin de notre pensée de nier toute possibilité d'interaction entre les filaments associés» (07, S. 403).

Wenn über diese Frage nach jahrelangen Forschungen noch keine Einigung hat erzielt werden können, so ist es klar, daß hier eines der schwierigsten Probleme der Zellenforschung vorliegen muß, zu dem nur mit größter Vorsicht Stellung zu nehmen ist. Lagerberg (09), Stomps (10), Tischler (10) sind geneigt, sich auf seiten Strasburgers zu stellen, wogegen z. B. A. Frisendahl (12, S. 16) Grégoire zustimmt und mit ihm die »augenscheinliche Einheitlichkeit des Spiremfadens» bei andern Objekten durch Verklebung der Fäden, die von »viskoser Konsistenz« sein sollen, erklärt. Dieser Erklärungsversuch, der an sich einleuchtend ist, scheint mir jedoch nicht auszureichen, die z. B. in Fig. 8 und 9 hervortretende Einheitlichkeit auf der ganzen Fadenlänge plausibel zu machen.

Solche Bilder bestimmen vielmehr auch mich, eine wenigstens zeitweise wirkliche Verschmelzung der Komponenten anzunehmen. Doch möchte ich an diesem Punkte nicht unterlassen hervorzuheben, daß es vor allem sehr günstiger Objekte bedarf, um ein (subjektiv) richtiges Urteil abgeben zu können. Ich stütze mich hier deshalb auch nicht auf Beobachtungen an *Thelygonum* allein, sondern habe daneben eingehend *Allium cepa*-♂ und *Tradescantia virginica*-♂ untersucht, wobei ich wieder fand, daß die Parallelkonjugation als Resultat völlig einheitliche dickere Chromosomen (spirème épais) liefert. Nach der Zusammenstellung bei K. Bonnevie (11, S. 214) stimmt das mit den Beobachtungen fast aller Untersucher überein.

Ist es aber wirklich so, daß die Fusion der Fäden während der Syndese eine vollständige, nicht nur scheinbare ist, so muß man Kristine Bonnevie Recht geben, wenn sie (08, S. 271) sagt: »Wenn aber die Vereinigung der beiden Chromosomen auf irgend einem Stadium genügend intim gewesen ist, um einen Austausch ihrer Teile zu erlauben, denn läßt sich nicht mehr entscheiden, ob die später sich trennenden Hälften der bivalenten Chromosomen dieselben sind, die früher konjugiert haben.« Die Wahl zwischen der Ansicht, die Längsspaltung des Spirems ergebe dieselben Chromosomen wieder, die sich vorher vereinigt hatten, und der Bonnevieschen (außerdem nur von Vejdovsky und Winiwarter et Sainmont geteilten), nach der eine völlige Verschmelzung der Konjuganten eintritt, wodurch die Zahlenreduktion der Chromosomen bewirkt wird (— prophase euméiotique par zygoténie définitive, Grégoire 10 —), so daß in den beiden Reifeteilungen eine zweimalige Längsspaltung der Konjugationschromosomen (»Mixochromosomen«) vollzogen wird, kann, meine ich, nicht schwer fallen, wenn man die bivalenten Chromosomen des «spirème épais» in deutlicher Einheitlichkeit vor sich hat. Die Bonneviesche Art, die Dinge zurechtzulegen, läßt sich mit den vererbungstheoretischen Vorstellungen, mit denen man an die heterotypische Teilung heranzutreten pflegt, so gut und so schlecht vereinigen wie das «schéma hétérohoméotypique», das die Cytologen unter den Botanikern, die Parasyndese annehmen, fast alle zu seinen Anhängern zählen darf. Das will freilich nicht viel besagen; so wie heute die Dinge liegen, muß in vorigem Satze auf das Wort »schlecht« der Nachdruck gelegt werden. Wir wissen ja nicht einmal sicher, ob der Kern allein an der Vererbung beteiligt ist, und noch viel weniger, ob irgend eine seiner Substanzen, ob speziell das, was in unsern Präparaten als »Chromatin« sichtbar ist, als Vererbungssubstanz bezeichnet werden darf. Man muß sich also hüten, das morphologische Bild der Reifeteilungen mit Gewalt so zurechtzurücken,

daß es dem augenblicklichen Stande der Vererbungslehre angepaßt erscheint.

Die Cytologie täte vielleicht gut, einmal das Problem der Reifeteilungen als rein morphologisches aufzufassen und zur Klarheit zu bringen, ohne Seitenblicke auf die Vererbungslehre, der sie augenblicklich nachhinkt, zu tun.

Auf Grund meiner Beobachtungen betrachte ich mit Kristine Bonnevie die parallele Konjugation je zweier somatischer Chromosomen als den wichtigsten Charakter der ersten Reifeteilung, da sie, als eine totale Verschmelzung, die Zahlenreduktion der Chromosomen bewirkt. (Dazu kommt das Ausbleiben einer Ruheperiode zwischen den beiden Reifeteilungen.) Aber ich sehe nicht ein, warum die erste Reifeteilung nicht als Reduktionsteilung bezeichnet werden sollte. In ihrem Verlaufe vollzieht sich doch tatsächlich eine Herabsetzung der Chromosomenzahl auf die Hälfte, und das ist das Einzige, was meiner Ansicht nach der Morphologe von einer »Reduktionsteilung« verlangen kann.

In solchen Kernen, die ein vollständig entwirrtes Spirem enthalten, tritt manchmal die bekannte Perlschnurstruktur zutage (Fig. 10), an die sich schon so viele Diskussionen geknüpft haben. Auch in der folgenden Fig. 11, die das Spirem beinahe überall gespalten zeigt, fällt sie auf, besonders da die dunkler tingierten Stellen in den Parallelfäden korrespondieren. Sie liegen übrigens nicht sehr nahe beieinander. Ich glaube nicht, daß dieser Struktur eine besondere Bedeutung zukommt. Schon Overton (05, S. 141) bemerkt, daß die Chromatinscheiben oder Chromomeren des Spirems bei einigen Pflanzen deutlich sind, bei andern nicht. Man trifft sie tatsächlich häufig, aber lange nicht immer. Oft sind in einem Kern einige Fäden mit ihr ausgestattet, andre nicht. Diese Unregelmäßigkeiten beweisen, daß die dunkleren Scheiben keine autonomen morphologischen Einheiten sind, sondern wohl, wie Grégoire (07, S. 411) sich ausdrückt, «simplement des tractus plus épais et plus chromatophiles des filaments chromosomiques». Diese Einsicht scheint sich jetzt allgemein Bahn zu brechen. Zum Teil wird dies eine Folge der andern sein, daß das Chromatin nicht das »Idioplasma« sein kann, daß letzteres eher im Linin vermutet werden darf (vgl. Häcker, 04, S. 217ff.; Strasburger 05, S. 32; 07, S. 123; Tischler 08, S. 133f.). Es ist klar, daß bei solcher Anschauung den erwähnten, so unregelmäßig auftretenden Strukturen keine große Bedeutung beigelegt werden kann.

Die in der Fig. 11 deutlich hervortretende Längsspaltung des Spirems scheint mir nicht immer erst dann eintreten zu müssen, wenn das Spirem bereits wieder den ganzen Kernraum durchzieht. Mir begegneten wenig-

stens verschiedentlich solche Bilder, wie Fig. 12 eines darstellt. Fünf Schlingen kommen aus dem im übrigen noch großen und dichten Synapsisknäuel hervor, die schon vollständig gespalten sind. Es handelt sich hier übrigens nicht um Doppelfäden mit freien Enden, denn der Kern war vom Mikrotommesser durchschnitten. Das gilt auch für die Fig. 13, die aber doch (oben) zeigt, wie die Fäden wieder zu ihrem Centrum zurückkehren. Ein solches Centrum der Spiremschlingen läßt sich in den Fig. 9 bis 14 überall erkennen. Sein Vorhandensein scheint mir eine ganz natürliche Folge der einseitigen Synapsiskontraktion zu sein. Von der Stelle des Knäuels aus müssen sich die Schlingen in den Kernraum hinein erstrecken. Diese Stelle, die natürlich in der Nachbarschaft des Nucleolus liegt (Fig. 6, 7), stellt also einen Pol für die Entwicklung der Spiremschlingen dar, auf den diese stets hinweisen. Die Polarität des Spirems verliert sich allmählich im Strepsinemastadium. Während sie sich in Fig. 13 und 14 noch deutlich bemerkbar macht, ist sie in Fig. 15 schon nicht mehr ohne weiteres erkennbar. In diesem Bilde hat man zweifellos schon die einzelnen Doppelfadenstücke, die bivalenten Chromosomen, vor Augen. Auch in Fig. 14 scheinen sich schon einige solcher freigemacht zu haben. Sicher stammen aber hier die meisten freien Enden vom Schnitt des Messers her. Die Frage, ob ein durchlaufendes Spirem existiert oder ob von vornherein die Fäden, welche Chromosomen repräsentieren, gesondert ausgebildet werden, konnte ich bei *Thelygonum* nicht entscheiden. Die größere Wahrscheinlichkeit hat jedenfalls die letztere Ansicht für sich, nicht allein wegen der Analogie zu somatischen Teilungen, sondern auch deshalb, weil die Untersucher von Pflanzen mit Kernen geringer Chromosomenzahl (z. B. Rosenberg 09, Stomps 10) freie Enden leicht beobachten konnten und daher ein «spirème continu» leugneten.

In der Fig. 15 könnte man vielleicht eine Stütze für die Faltungstheorie erblicken, die bekanntlich die Bildung der Gemini durch Vereinigung von Schleifenschenkeln vor sich gehen läßt. Die Umbiegungen der Fadenstücke erklärt sich aber leicht aus dem eben über die Polarität des Spirems Gesagten. Danach ist es klar, daß aus einem solchen spirème déroulé, wie es Fig. 10 darstellt, gebogene Doppelfadenstücke resultieren müssen, gleichgültig, ob sie von vornherein individualisiert existieren oder durch Segmentierung entstehen. Die Fadenstücke sind hier, wie wohl bei den meisten Pflanzen, so lang, daß sie sich in der Kernhöhle durch Krümmungen und Biegungen Platz verschaffen müssen. Vor allem aber entspricht die ganze Entwicklung des Strepsinema nicht den Forderungen der Faltungstheorie. Die Dualität der Spiremfäden läßt sich nämlich

bis in das Diakinesestadium gut verfolgen, und es läßt sich feststellen, daß die Verkürzung der Doppelfäden diese gerade streckt (Fig. 15—20). Die Unabhängigkeit der beiden Komponenten, die eine wesentliche Stütze für ihre Auffassung als ursprüngliche Ganzchromosomen sein soll, übrigens von Kristine Bonnevie, die diese Ansicht nicht teilen kann, doch auch als einer der heterotypischen Charaktere der ersten Reifeteilung bezeichnet wird (08, S. 231, 270), tritt schon hier zutage. Sie entfernen sich verhältnismäßig weit voneinander. Meist bleiben sie an einem Ende oder in dessen Nähe in Zusammenhang. Durch weitere Verkürzung findet nunmehr der Übergang zur Diakinese (Fig. 20) statt.

Ich habe also keine Beobachtung machen können, die mich genötigt hätte, der Faltungstheorie zuzustimmen. Nach meiner oben dargelegten Anschauung von der Einheitlichkeit des Verlaufs der Reduktionsteilung bei den Cormophyten muß ich die Meinung vertreten, daß es bei dieser Pflanzengruppe Metasyndese nicht gibt.

Die Fig. 17—19 stellen Kerne mit beginnender Diakinese dar. Es treten in ihnen die schon oft beschriebenen verschiedenen Chromosomenfiguren auf: Ringe, Kreuze, auseinandergespreizte sowie verschlungene Chromosomen. Fig. 18 stellt ein Extrem in bezug auf Mannigfaltigkeit dieser Gestalten dar (Anomalität?). Im Zustande der ausgesprochenen Diakinese (Fig. 20) findet man bei *Thelygonum* fast stets Vereinigung der beiden Chromosomen an einem Ende und geringe Spreizung an dem andern, während z. B. bei *Adoxa* (Lagerberg 09, S. 12; Taf. II, Fig. 18 bis 20) noch in der Metaphase verschiedene »Gemini«-Bilder zu sehen sind. — Der Übergang zur Diakinese braucht sich übrigens, wie noch bemerkt sei, in einem Kern nicht überall gleichzeitig zu vollziehen. Fig. 17 zeigt einen Kern, der im oberen Teil bereits Diakinesechromosomen enthält, im unteren aber noch langgestreckte Doppelchromosomen führt. Auf diese Erscheinung hat besonders A. Frisendahl in seiner Abhandlung über *Myricaria* (12) des öfteren hingewiesen.

Die Zählung der Chromosomen in der Diakinese ergab für *Thelygonum Cynocrambe* im Haploid die Zahl 10. Dieses Ergebnis ließ sich beim Studium der Anaphasen dieser ersten Teilung und derjenigen der folgenden haploiden Teilungen bestätigen. Eine solche Nachprüfung der Chromosomenzählungen an Diakinesekernen muß allgemein gefordert werden, seitdem es feststeht, daß die Chromosomen der Diakinesepaare sich auch ganz voneinander trennen können (Strasburger 04, Fig. 4; 09, S. 73, Taf. III, Fig. 69; 10b, S. 246, Taf. VII, Fig. 6; K. Miyake 05, S. 98, Taf. III, Fig. 29—32; Th. Stomps 10, Taf. I, Fig. 6; Taf. II, Fig. 16

usw.), wodurch die Gefahr des doppelten Zählens einzelner Chromosomen nahe gerückt wird.

Hiermit sei die Besprechung der heterotypischen Prophasen bei *Thelygonum* geschlossen. Wenn in ihr manche Fragen offen gelassen worden sind, die man sonst wohl im einen oder andern Sinne ganz positiv beantwortet findet, so bedarf das keiner Rechtfertigung. Der gordische Knoten der Reduktionsteilung läßt sich nicht durchhauen; er will in mühevoller Arbeit gelöst sein.

Das Wichtigste dessen, was ich zeigen wollte, ist folgendes:

1. Unsre heutige Einsicht in die Phylogenie des Pflanzenreichs läßt den Schluß zu, daß verschiedene Reduktionsmodi bei Pflanzen vorkommen, aber nicht im Stamme der Cormophyten nebeneinander existieren können.

2. Die Lawsonsche (osmotische) Theorie ist nicht ausreichend zur Erklärung der Synapsisphänomene.

3. Die Parallelkonjugation der Chromosomen in der Prophase führt zu völliger Verschmelzung und bewirkt so die Zahlenreduktion der Chromosomen. Auf sie folgt eine echte Längsspaltung, die die Diakinesechromosomen liefert.

4. Bei *Thelygonum* (und andern Cormophyten) gibt es keine Metasyndese.

Bonn, den 15. September 1913.

Verzeichnis der zitierten Literatur.

Bonnevie, K. 1908. Chromosomenstudien II. Heterotypische Mitose als Reifungscharakter. Arch. f. Zellf. Bd. II.

—— 1911. Chromosomenstudien III. Chromatinreifung in Allium cepa (♂). Arch. f. Zellf. Bd. VI.

Davis, B. M. 1911. Studies on Oenothera III. A comparison of the reduction divisions of Oenothera Lamarckiana and Oenothera gigas. Ann. of Bot. Bd. XXV.

Digby. 1912. The cytology of Primula Kewensis and of other related Primula Hybrids. Ann. of Bot. Vol. XXVI.

Frisendahl, A. 1912. Cytologische und entwicklungsgeschichtliche Studien an Myricaria germanica. Kungl. Sv. Vetensk. Handl. Bd. XLVIII.

Gates, R. 1908. A study of reduction in Oenothera rubrinervis. Bot. Gaz. Vol. XLVI.

—— 1909. The behavior of chromosomes in Oe. lata × Oe. gigas. Bot. Gaz. Vol. XLVIII.

Grégoire, V. 1907. La formation des gemini hétérotypiques. La Cellule. T. XXIV.
—— 1910. Les cinèses de maturation dans les deux règnes. L'unité essentielle du processus méiotique. La Cellule. T. XXVI.
Häcker, V. 1904. Bastardierung und Geschlechtszellenbildung. Ein kritisches Referat. Weismann-Festschrift.
Lagerberg, T. 1909. Studien über die Entwicklungsgeschichte und systematische Stellung von Adoxa moschatellina. Kungl. Sv. Vetensk. Handl. Bd. XLIV.
Lawson, A. 1911. The phase of the nucleus known as synapsis. Transact. R. Soc. Edinburgh. Vol. XLVII.
Miyake, K. 1905. Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Monokotylen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLII.
Overton, J. B. 1905. Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dicotylen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLII.
Regaud. 1908. Sur les mitochondries de l'épithelium séminal. C. r. Soc. de Biologie Vol. LXV.
Stomps, Th. 1910. Kerndeeling en Synapsis bij Spinacia oleracea. Dissert. Amsterdam.
Strasburger, E. 1894. The periodic reduction of the number of the chromosomes in the life-history of living organisms. Ann. of Bot. Vol. VIII.
—— 1900. Histol. Beiträge VI. Über Reduktionsteilung, Spindelbildung, Centrosomen usw. Jena.
—— 1904. Über Reduktionsteilung. Sitzber. d. Akad. d. Wissensch. Berlin.
—— 1905. Typische und allotypische Kernteilung. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLII.
—— 1907. Apogamie bei Marsilia. Flora. Bd. XCVII.
—— 1908. Chromosomenzahlen, Plasmastrukturen, Vererbungsträger und Reduktionsteilung. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLV.
—— 1909. Histol. Beiträge VII. Zeitpunkt der Bestimmung des Geschlechts, Apogamie, Parthenogenesis und Reduktionsteilung. Jena.
—— 1910a. Über geschlechtsbestimmende Ursachen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLVIII.
—— 1910b. Sexuelle und apogame Fortpflanzung bei Urticaceen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLVII.
Tischler. 1908. Studien an sterilen Bastardpflanzen. Arch. f. Zellf. Bd. I.
—— 1910. Untersuchungen über die Entwicklung des Bananenpollens. I. Arch. f. Zellf. Bd. V.
Wettstein. 1911. Handbuch der systematischen Botanik. 2. Aufl. Wien.
Yamanouchi. 1908. Sporogenesis in Nephrodium. Bot. Gaz. Vol. XLV.
—— 1909. Mitosis in Fucus. Bot. Gaz. Vol. XLVII.
—— 1910. Chromosomes in Osmunda. Bot. Gaz. Vol. XLIX.

Erklärung der Tafelfiguren.

Tafel XXVIII.

Fixierung: Flemming oder Regaud (1908). 1900fache Vergrößerung mit Imm. 1/16 Leitz und Kompens.-Oc. 12. Zeichnung auf Objekttischhöhe ausgeführt.

Fig. 1. Aus der Ruhe kommender Kern.

Fig. 2. Leptotenisierung.

Fig. 3. Lepto-Zygonema.

Fig. 4. Zygonema. Beginn der Synapsis.

Fig. 5, 6. Synapsis.

Fig. 7—9. Pachynema.

Fig. 10—12. Längsspaltung des Spirems; in Fig. 12 sehr früh einsetzend.

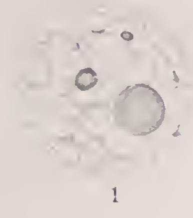
Fig. 13, 14. Übergang zum Strepsinema.

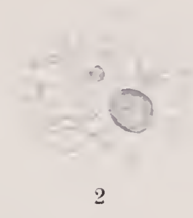
Fig. 15. Strepsinema.

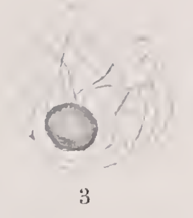
Fig. 16. Beginnende Verkürzung der Doppelchromosomen.

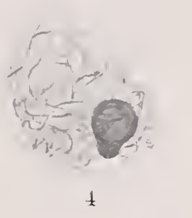
Fig. 17—19. Vorstadien der Diakinese; in Fig. 17 ungleichmäßige Verkürzung.

Fig. 20. Diakinese.


1


2

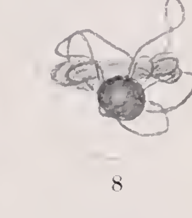

3


4


5

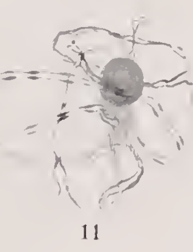

6


7

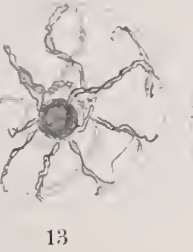

8

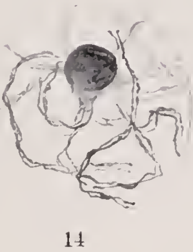

9


10


11

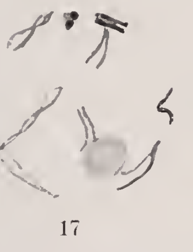

12


13


14


15


16


17


18


19


20

Schneider.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin.

Eine neue Anschauung über physiologische Zellausschaltung.

Von

Dr. **Ludwig Gräper,**

Erster Assistent an der kgl. Anatomie Breslau.

Mit 3 Textfiguren und Tafel XXIX.

Fast in allen Organen des erwachsenen Individuums findet man mitotische Kernteilungen, die eine Zellvermehrung in ihnen anzeigen. Wir wissen aber, daß die Zellgröße konstant bleibt, und unter normalen Verhältnissen auch die Organe nicht wachsen. Wenn also fortwährend Zellen neu geschaffen werden, so müssen doch genau so viele Zellen aus dem betreffenden Organ wieder eliminiert werden, damit das Gleichgewicht erhalten bleibt. Wie dies geschieht, ist meines Wissens nie ernstlich untersucht worden. Die Kenntnis dieser durchaus normalen, physiologischen Vorgänge ist aber außerordentlich wichtig, nicht nur weil, worauf unter andern auch Reichenow (34) richtig hinwies, gelegentlich Bilder, die genau so aussehen, wie physiologische Zelldegeneration, für Parasiten gehalten worden sind, sondern weil überhaupt die Kenntnis dieser Vorgänge sehr wenig verbreitet ist und auch in der naturwissenschaftlich-anatomischen Literatur die Bilder teils unrichtig beschrieben sind, teils zu sehr gekünstelten Deutungen Veranlassung gegeben haben. So will Young (43) die Entstehung von Kernen aus dem Protoplasma beobachtet haben. Leider sind aber die dieser Arbeit beigegebenen Mikrophotogramme so undeutlich, daß eine Entscheidung unmöglich ist; so weit man sehen kann, scheinen die »entstehenden Kerne« aber nur Kerndegenerationen zu sein. Guieysse-Pellissier (16) bildet in seiner Fig. 17 eine Zelle mit einem Einschluß ab, die ganz meinem Schema einer normalen Zelle mit aufgenommener degenerierter Zelle entspricht. Er hält den Einschluß aber für einen in die Zelle eingedrungenen Leucocyten, der dort mit der Zelle in Synbiose leben und unter Umständen später den alternden, eigentlichen

Zellkern ersetzen soll. Für Leucocyten scheinen derartige degenerierende Zellen öfter gehalten worden zu sein, so z. B. von MARTIN (24) und MICHAELIS (25) bei der Milchsekretion, von ARNOLD (2), von HEIDENHAIN (17), von AMANN (3), wobei gesagt sein muß, daß im Gewebe zugrunde gehende Leucocyten natürlich auch Chromatolyse zeigen. Man darf aber nicht jedes Chromatolysebild für einen zugrundegehenden, durchwandernden Leucocyten ansehen. H. RABL (33) beschreibt untergehende, intracellulär gelegene Chromatinmassen als Nebenkern der Zelle und fand diese Gebilde auch in mitotisch sich teilenden Zellen. Auch die von VAN DER STRICHT und DEKHUYSEN beschriebenen, sich stark färbenden Körper in Knorpelzellen hält H. RABL (35) für Nebenkerne. CHAMPY (6) beobachtete in den Darmepithelzellen von Anuren Körper, die er gleichfalls für Nebenkerne erklärt. In ähnlicher Weise erklärt LUKJANOW (23) typische intracelluläre Chromatolysen an der Schleimhaut des Salamandermagens für Nebenkerne und normale Strukturverhältnisse der Zellen. Auch C. RABL (32) fand im Inneren von Epithelzellen Körperchen, die sich sehr intensiv färbten, hielt sie aber für Zelleinlagerungen oder Zellprodukte mehr sekundärer Art, die nicht auf den Zerfall von Kernen zu beziehen seien. NUSSBAUM (28) sah ähnliche Bilder, deutet sie aber als »verdichtetes Protoplasma«.

Man sieht, wie vielerlei Deutungen Bilder erfahren haben, die ich sämtlich für den Ausdruck der Elimination überflüssiger oder lebensschwacher Zellen halten muß. Es haben offenbar alle früheren Beobachter nicht für möglich gehalten, daß eine beliebige Zelle eines Gewebes eine gleichartige Nachbarzelle einfach in sich aufnehmen und verzehren kann. Besonders deutlich tritt die Scheu vor einer solchen Annahme in einer Arbeit M. HEIDENHAINS (17) hervor, der in den Drüsen der Kloake der Salamanderarten Zellen fand, welche Körper enthielten, die von ihm richtig als degenerierte gleichartige Zellen erkannt wurden. Er bedarf aber einer umständlichen und meines Erachtens unzulänglichen Beweisführung, um zu zeigen, daß diese Gebilde nicht innerhalb der Zelle selbst lägen, sondern nur in sie hinein invaginiert wären.

Bisher sind, wenn wir von den Verschmelzungen der ersten Furchungszellen und Befruchtungsvorgängen (BOVERI) absehen, nur recht wenige Beispiele bekannt geworden, wo ganze Zellen von andern desselben Organismus aufgenommen werden. Die Phagocytose, der die roten Blutkörperchen durch Leberzellen, Endothelzellen, Erythrophagen der Milz und des Knochenmarkes unterliegen, brauche ich hier nicht zu besprechen. AICHEL (1) nimmt — rein theoretisch, ohne jede Beobachtung — Verschmelzung von gleichartigen Somazellen und Verschmelzungen von Soma-

zellen mit Leucocyten an. Erstere sollen gutartige, letztere bösartige Geschwülste geben!

Auerbach (4) deutet seine Befunde von mehrkernigen Spermioblasten der Schnecke (*Paludina*) auf Verschmelzung einkerniger. Ferner haben zum Beispiel Jörgensen (20) bei Schwämmen (Syconen), Buchner (5) bei Sagitten, Kühn (21) bei Daphnien neben anderen Untersuchern nachgewiesen, daß die Oocyten sich durch Aufnahme, also Phagocytose, von Nährzellen vergrößern. Auch Schaxel (40) läßt die Ascidieneier umgebende Testazellen aufnehmen, denen er eine ganz eigenartige Bedeutung zuschreibt. Von den Wirbeltieren ist mir nur eine einzige derartige Beobachtung bekannt geworden: Wetzel (42) sah in den Ovarialeiern von *Pelias berus* eine Anzahl von Kernen; für eine bestimmte Deutung entscheidet er sich nicht, glaubt aber nicht, daß es sich um Rückbildung des Eies — höchstens um sehr junge Stadien — handele. Auf das Vorkommen sogenannter Nebenkerne im Säugetierei will ich nur kurz hinweisen, da ihr Wesen und ihre Bedeutung unbekannt sind. Die Beobachtungen von Ruge (39) und seine Literaturzusammenstellungen weisen deutlich darauf hin, daß das Eindringen von Zellen in das Wirbeltierei stets den Untergang des Eies bedeutet. Diese Arbeit und die im folgenden angeführten bestärken mich in meiner durch das Studium meines Materials gewonnenen Ansicht, daß eine Zellschädigung, insbesondere eine Altersschädigung der Zelle sich zuerst in einer Neigung der Zelle geltend macht, ihre Eigenart als in sich abgeschlossenes Ganze aufzugeben, die sich in der Regel in einer Verschmelzung mit einer Nachbarzelle äußert. Eine rein mechanische Erklärung dieses Umstandes, wie einen Hinweis auf die die Zellgröße überhaupt möglicherweise bestimmenden Faktoren werde ich in einer späteren Abhandlung zu geben versuchen. Es folgt die Aufzählung einiger obige Ansicht bekräftigender Beobachtungen:

Schon Flemming (12) sagt in seinem klassischen Werk, daß im Salamanderhoden in Spermatocysten Zellen mit mehr als zwölf Kernen vorkommen und in einer späteren Arbeit (13) sagt er, daß in solchen Spermatocysten Chromatolyse sehr häufig sei. Tandler und Gross (41) erwähnen in ihrer Arbeit über den Saisondimorphismus des Maulwurfhodens während der Zeit der Rückbildung des Hodenparenchyms das Vorkommen vielkerniger Zellen im Lumen. Ferner haben Nusbaum und Oxner (29) am Darm von Nemertinen und Citron (7) bei *Sycorus Sarsii* bei längerem Hungern die Zellgrenzen schwinden sehen. L. Loeb (22) sah, daß, wenn bei der Heilung von Hautwunden Epithelreste getrennt von dem übrigen Epithel in die Tiefe zu liegen kommen, diese unter Bildung von Riesen-

zellen zugrunde gehen, und weist dabei auf Arnolds Ansicht hin, daß derartige Riesenzellen durch Verschmelzung mehrerer entstehen können. Ditlevsen (9) zeichnet sogar im verhornenden Plattenepithel mehrkernige Zellen, erklärt sie aber als durch Kernknospung entstanden. Ähnliche Ansichten scheinen sehr weit verbreitet zu sein und überall, wo man in geschädigten oder sich rückbildenden Organen Zellen mit zwei Kernen gesehen hat, hat man immer versucht, ihre Entstehung durch Kernknospung, bzw. Amitose zu deuten und hat immer nach Bildern gesucht, die diese Vermutung zu bestätigen schienen. Das ist in vielen Fällen auch gelungen, wenn die Autoren auch gelegentlich durchblicken lassen, daß diese Bilder sehr selten, wenn nicht gar vereinzelt sind. Die viel einfachere Erklärung, für die ich genügend Beweise erbringen werde, daß bei Schädigung des Organes zwei einkernige Zellen verschmelzen können, findet sich nirgends.

So sagt Nauwerk (26) in einer Abhandlung über amitotische Kernteilungen: »Es ist seit längerer Zeit bekannt, daß in der Leber bei Degenerationsprozessen[1]) die Zahl der zwei- und mehrkernigen Leberzellen zunimmt.« Gleichzeitig sieht man nach ihm in geringer Menge Mitosen. Auch Reinke (35) läßt die zweikernigen Leberzellen durch Amitose entstehen. Reichenow (34) findet, daß degenerierende Zellen im Anurendarm häufig mehrkernig gefunden werden. Auch er glaubt, diese Tatsache durch amitotische Teilung erklären zu müssen. Ähnlich ist die Ansicht von Reuter (36), auf die ich weiter unten näher eingehen werde. Ob auch die vielfach, zum Beispiel durch Zawarzin (44) untersuchten, eigenartigen Bilder des Epithels der Descementschen Membran, an der man vielkernige Zellen findet, sich durch Zellverschmelzung und physiologische Zellelimination infolge unzureichender Ernährung erklären lassen, entzieht sich meiner Beurteilung. Wichtig für meine Auffassung ist der gelegentlich schon von Flemming (12) (S. 333) erhobene Befund, daß bei mehreren erst etwa eine Stunde p. m.[1]) fixierten Schweinslebern $^1/_4$ bis $^1/_3$ der Zellen zweikernig, viele drei- und mehrkernig waren; ferner folgende Angabe Flemmings (S. 335): »Wenn man Gewebe, die reichliche indirekte Zellteilungen enthalten, absterben[2]) läßt (z. B. Amphibienepithelien), so findet man nach einiger Zeit (z. B. bei Amphibien nach mehreren Stunden) darin keine oder nur ganz einzelne Teilungsfiguren, dagegen viel zahlreichere zweikernige Zellen, als sie im lebenskräftigen Gewebe vorkommen.« Dabei ist es gleichgültig, ob nun Flemmings Erklärung, nach der bei der abnehmenden Lebensenergie die begonnenen Teilungen in solchen Zellen es nicht zur Zellteilung, sondern nur

[1]) Von mir gesperrt.
[2]) Im Original gesperrt.

zur Kernteilung gebracht haben sollen, oder ob meine Annahme der Wirklichkeit näher kommt, daß die erste Schädigung des überlebenden Gewebes sich in einer Verschmelzung von Zellen bemerkbar machte, — die einzige Erklärung, die die eben mitgeteilten Beobachtungen FLEMMINGS an Schweinelebern zulassen würde. Jedenfalls ersieht man aus den FLEMMINGschen Beobachtungen, daß das Auftreten mehrkerniger Zellen mit der Abnahme der Lebenskraft innig verknüpft ist. Nur der Analogie wegen möchte ich erwähnen, daß R. HERTWIG (18) einzelne seiner Beobachtungen an durch Überfütterung geschädigten und zugrunde gehenden Actinosphärien durch Verschmelzung zweier Individuen erklärt.

Ich komme nun auf die Chromatolyse selbst zu sprechen. Im Jahre 1885 beschrieb FLEMMING (11) in zugrundegehenden Eifollikeln eine Art des Kernzerfalles, die er Chromatolyse nannte, während gleichzeitig und unabhängig von ihm NISSEN (27) beim Studium der Milchsekretion ganz ähnliche Bilder fand und abbildete, die er gleichfalls für zugrunde gehende Kerne hielt. Beide Untersuchungen wurden bald reichlich bestätigt, und seither gehören Chromatolysen zu den alltäglichen Beobachtungen der pathologischen Anatomen, sodaß es zwecklos erscheint, hier auf die Literatur näher einzugehen. Es kann sich nur um eine Erwähnung einzelner ad hoc ausgewählter Arbeiten handeln, neben solchen, in denen physiologischerweise vorkommende Chromatolyse beschrieben ist, und auch bei ihnen kann der Anspruch der Vollständigkeit nicht erhoben werden.

Chromatolyse muß physiologisch in allen Organen zu finden sein, wo Zellen aus dem Verbande eliminiert werden. Das kann geschehen: erstens zum Zweck des regelmäßigen Ersatzes altersschwacher Zellen, ein Vorgang, der am schwierigsten zu beobachten ist; zweitens bei Verkleinerung von Organen, deren Funktion im Laufe der Entwicklung eingeschränkt oder überflüssig wird (z. B. Dottersack, Darm und andere Organe der Anurenlarven usw.); drittens bei Organen, die physiologisch starken Volumenschwankungen unterworfen sind (z. B. Maulwurfshoden); viertens in drüsigen Organen, in denen die abgestoßenen Zellen selbst zum Sekret werden (z. B. Mammarmilch, Uterinmilch).

Im folgenden möchte ich nun, zum Teil aus der Literatur, zum Teil aus eigenen Beobachtungen erweisen, daß in sehr vielen Fällen — und ich bin persönlich der Ansicht, daß es sich in den allermeisten Fällen so verhält — die chromatolysierten Kerne innerhalb von anderen Zellen liegen, daß also die Zellemission in der Weise vor sich geht, daß die geschwächte Zelle von einer gleichartigen Schwesterzelle aufgenommen und dann zur Chromatolyse gebracht wird, ein Vorgang, den ich als intracelluläre Chromatolyse bezeichnen will.

Ich bin mir wohl bewußt, daß dies nicht der einzige Weg zu sein braucht. So habe ich selbst einzelne Fälle gesehen, in denen Chromatolyse erfolgt war, ohne daß man eine Phagocytose nachweisen konnte. Ich glaube aber, daß derartige Stellen, wo es sich um intercelluläre Chromatolyse zu handeln scheint, die Ausnahme bilden. Gelegentlich war der Nachweis der Phagocytose sehr schwer, sodaß diese Fälle hier außer Betracht bleiben müssen. So sieht man öfter in verödenden Kapillaren, wie ich sie beispielsweise am Dottersack der Vögel beobachtet habe, in einem blind endenden Stück eine Reihe kernhaltiger Blutkörperchen, die, je weiter sie nach dem blinden Ende zu liegen, desto weiter fortgeschrittene Chromatolyse zeigen. Während nun für die späteren Stadien hier die intracelluläre Lage sicher erscheint, ist sie von den vorhergehenden nicht sicher zu erweisen. Ähnliche Bilder sind z. B. von Fuchs (15) in der Literatur gezeichnet, ohne daß er näher auf unsere Fragen eingeht. Daß man die Zelleinschlüsse, die Guieysse-Pellissier (16), Martin (24), Michaelis (25), Arnold (2), Amann (3) und andere als eingewanderte Leucocyten, C. Rabl (32), Champy (6), Lukjanow (23), H. Rabl (33) als andere Zelleinschlüsse oder Nebenkerne beschrieben, für phagocytierte und chromatolysierte Nachbarzellen halten darf, ist mir nicht zweifelhaft, zumal H. Rabl (33) seine »Nebenkerne« besonders an hungernden Larven und C. Rabl (32) die beschriebenen Gebilde an untergehenden Teilen der Linsenanlage beobachtete.

Wenn man ferner die Zeichnungen, welche Nissen (27), Michaelis (25), Ottolenghi (50) und andere bei der Beschreibung der Milchsekretion geben, betrachtet, so fallen sofort die vielen zweikernigen Zellen auf, und zwar erscheinen in manchen beide Kerne normal, in anderen der eine normal, der andere in typischer Chromatolyse begriffen. Im Text sind diese Dinge höchstens beiläufig erwähnt. Es handelt sich also hier um typische intracelluläre Chromatolyse innerhalb von gesunden Nachbarzellen mit normalem Kern.

Hier macht sich auch ein Eingehen auf eine Arbeit M. Heidenhains (17) erforderlich, der sich mit aller Energie — ganz offenbar aus theoretischen Gründen — dagegen wendet, daß eine chromatolytische Zelle in eine andere aufgenommen werden könne. Er bedarf daher zur Stützung seiner Invaginationstheorie sehr komplizierter Annahmen, um seine eigenen Bilder, die doch deutlich eine intracelluläre Lage der Chromatolyse zeigen, zu erklären. Deswegen braucht er auch für den Fall eine besondere Erklärung durch Kernsprossung, in dem er kleinere chromatolytische Elemente innerhalb der Zelle sieht. Der Umstand, daß er nie eine zweikernige Drüsenzelle gesehen haben will, ist nicht schwerwiegend, denn einerseits

kann dieser Zustand ein sehr rasch vorübergehender sein, indem bei dem einen Kern nach der Zellverschmelzung sehr schnell Chromatolyse auftritt. Anderseits hat er auch einen gewissen Teilungsvorgang, den er für zweifellos bestehend annimmt, nicht beobachten können. Auch der Wert, den Heidenhain auf den Kontur der umschlossenen Zelle legt, wird gleich Null, wenn man bedenkt, daß jede Vacuole einen Kontur zeigt, der durch Kontrastwirkung und andere rein optische Bedingungen stärker vorgetäuscht werden kann. Somit fällt auch der Einwand, den Heidenhain gegen Nissens (27) Fig. 5 erhebt. Die späteren Stadien der Chromatolyse, bei denen nur noch kleine Partikel übrig sind, sind ja auch von Heidenhain überall intracellulär gesehen worden.

Von dem genauen Zitieren der Literatur über Kernzerreißung — Albrecht und andere — auf die ich an dieser Stelle kurz hinweisen möchte, kann ich wohl absehen. M. Nussbaum (28), der die Rückbildung embryonaler Organe studiert hat, hat auch innerhalb der Zellen kugelige Degenerationsprodukte gesehen bei völlig normal aussehendem Kern. Deshalb glaubt er nicht an eine Herkunft von diesem Kern, etwa durch Kernsprossung, sondern meint, die Degeneration habe in diesen Fällen im Protoplasma begonnen. An die Möglichkeit einer Zellverschmelzung hat er offenbar nicht gedacht. Vielleicht handelt es sich bei der »cytoplasmatischen Degeneration« Ehrlichs (10) im Ascarisdarm wenigstens zum Teil in ähnlicher Weise um falsche Deutung der Bilder. Zu registrieren ist hier auch die Angabe von Friedmann (14), daß er die Zwischenkörperchen des Hodens beim Frosch, die er wie auch andere für zugrunde gegangene Keimzellen hält, im Inneren der Spermatogonien findet.

Sehr interessant sind bei meiner Auffassung die Befunde von Des Cileuls (8), der in der Uterusschleimhaut des Kaninchens während der Entwicklung des Corpus luteum erst Mitosen, dann Amitosen (d. h. wohl weiter nichts als zweikernige Zellen?), dann bei einem Teil der Kerne Pyknose, Chromatolyse, Karyorrhexis, Leucocyteninfiltration fand; liegt doch gerade in dieser Reihenfolge eine Stütze für meine Auffassung. Ich selbst habe in der Uterusschleimhaut der Katze zahlreiche intracelluläre Chromatolysen gefunden (vgl. Fig. 6) und werde weiter unten noch ausführliche Gründe für ihre wirklich intracelluläre Lage angeben. Auch die Zeichnungen der Uterusschleimhaut von Henricus (14) zeigen sehr zahlreiche, wenn auch im Text nicht weiter erwähnte mehrkernige Zellen der Uterusschleimhaut während der Bildung der »Uterinmilch«, d. h. zu einer Zeit, wo große Mengen von Schleimhautzellen unter Chromatolyse zugrunde gehen. Also ist auch hier die Chromatolyse intracellulär. Die Absonderung der »Uterinmilch« ist dabei nur ein Ausdruck dafür,

daß das Zugrundegehen der Schleimhautzellen so massenhaft geschieht, daß die chromatolysierten Zellen nicht restlos von den übrigen Zellen, die durch die Aufnahme einer Masse von Zellen selbst in ihrer »Kernplasmarelation gestört« sind, aufgelöst werden können. Es tritt also eine Ausstoßung der chromatolysierten und häufig auch der dadurch stark zerrissenen chromatolysierenden Zellen ein.

Ganz ähnlich sind die Verhältnisse bei dem klassischen Material Flemmings (11). Auch ich habe einige zugrunde gehende Follikel, deren Eier abnorme Reifungsspindeln zeigten, beim Meerschwein beobachtet. Dabei fiel mir auf, daß dort, wo die Chromatolysen sichtbar waren, eine Zellgrenze so gut wie nie zu sehen war, d. h. eine Art Syncytium von normalen und chromatolysierten Zellen gebildet war. Die oberflächlichsten Zellen sind gelockert und gelangen in das Follikellumen. Dabei reißt natürlich die Protoplasmamasse dort, wo sie am schwächsten ist, d. h. dort, wo die eingeschlossenen, zu Kugeln gewordenen chromatolysierten Zellen sich am meisten nähern, und dann erhält man gelegentlich Bilder wie Fig. 10, die die Heidenhainsche Ansicht zu stützen scheinen, daß die chromatolysierten Kugeln in Dellen der normalen Zelle invaginiert seien. Jedoch muß ich ausdrücklich betonen, daß das Protoplasma an den Zellgrenzen einfach als Maschenwerk ohne jeden schärferen Kontur aufhört, also von eigentlicher Zellgrenze nichts zu sehen ist. Anderseits sieht man auch Bilder wie Fig. 10 rechts vom Kern und Fig. 11, bei denen die intracelluläre Lage der Chromatolyse ohne weiteres ersichtlich ist.

Diese Vorgänge leiten direkt über zu denen am Amphibiendarm, wo besonders bei der Metamorphose massenhaft Schleimhautzellen zugrunde gehen. Sehr gute Abbildungen über diese Vorgänge gibt Reichenow (34). Viele seiner Abbildungen stimmen prinzipiell mit den meinigen überein. Seine Deutung ist allerdings anders. So glaubt auch er, daß die Zellen mit zwei anscheinend normalen Kernen durch Amitose entstanden seien. Dunkle Chromatinkugeln, die er in der Höhlung eines Kernes liegen sieht, (vgl. seine Fig. 17), hält er für von diesem abgestoßenes Chromatin, während es wohl nur der Rest des Chromatins einer weitgehend »verdauten« Zelle ist. Seine Fig. 24 bis 26 zeigen innerhalb einer Zelle mit ganz normal erscheinendem Kern — die Eindellung ist nicht als Zeichen geringerer Lebensenergie anzusehen, sondern lediglich bedingt durch die intracellulär gelagerten phagocytierten Massen — typische chromatolysierte Zellen. Er hält beide für degenerierende Zellen, die sekundär verschmolzen sind. Er sagt wörtlich: »Dadurch, daß miteinander Zellen auf sehr verschiedenen Graden der Degeneration verschmelzen, ergeben sich die eigenartigsten Bilder, von denen die Fig. 24 bis 27 eine kleine Auswahl dar-

stellen.« Die viel einfachere Erklärung, die auch die eben erwähnten Tatsachen leicht miterklärt, ist die, daß primär die Zellgrenze zwischen beiden Zellen geschwunden ist, dann im Kampf der Teile der eine Kern über den andern obgesiegt hat und die Chromatolyse in der Reihe über die Reichenowschen Fig. 8, 24 bis 26, 17, 16 fortgeschritten ist. Daß dabei auch die obsiegende Zelle durch Überfütterung in einen Depressionszustand geraten und ihrerseits durch Einwirkung andrer Zellen chromatolysiert werden kann, wenn sie nicht inzwischen durch fortschreitenden Epithelzerfall aus dem Verbande des Epithels gelöst ist, soll nicht bestritten werden, ist aber von Reichenow nicht erwähnt.

Sehr interessant erscheint ferner die Arbeit von Reuter (36) über die Rückbildungserscheinungen am Darmkanale der Larve der Geburtshelferkröte. Schon während der Vorbereitung dieser Rückbildungserscheinungen beschreibt und zeichnet Reuter eine Anzahl zweikerniger gewöhnlicher Epithelzellen. Auch er ist der Ansicht, daß sie durch Amitose entstehen und zeichnet eine Anzahl darauf hindeutender Bilder. Ich kann diese jedoch alle nicht als absolut beweisend anerkennen, da viele Kerne — nicht nur die der Leucocyten — außerordentlich plastisch sind und sich leicht jedem gegebenen Raume anpassen; und gerade an dem Material Reuters ist nach seiner eigenen Beschreibung eine große Raumbeengung im Epithel anzunehmen. Ich selbst habe scheinbar auf Amitose deutende Bilder an den Kiemenplättchen von Salamanderlarven gesehen, aber dabei immer einen auffallenden Raummangel konstatieren können; so lag z. B. gerade auf der Brücke zweier hantelförmig ausgezogener Epithelkerne ein sehr dicht erscheinender Kern einer andern Zelle, sodaß die scheinbaren Amitosen als einfache Kernimpressionen aufgefaßt werden mußten. Ich will damit gar nicht das gelegentliche Vorkommen der Amitose leugnen, sondern nur zur Vorsicht bei der Deutung derartiger Bilder raten. Reuter beschreibt nun zwei Arten von Zellen, die während der Rückbildung des Darmepithels entstehen sollen; beide sind mehrkernig, beide liegen vorzugsweise in der Nähe der Basalmembran, beide sind Abkömmlinge der Epithelzellen. Besondere Sorgfalt verwendet er unter eingehender Berücksichtigung der Literatur, die ich deshalb übergehen darf, auf den Nachweis, daß die eine Art — Rundzellen — veränderte Epithelzellen und nicht etwa durchwandernde Leucophagocyten seien. Darin ist ihm entschieden Recht zu geben, wenn ich auch die Reuterschen Rundzellen für eine solche Epithelzelle halten muß, die eine andre in sich aufgenommen und chromatolysiert, bzw. plasmolysiert hat, also in gewissem Sinne doch ein Phagocyt ist. Die Rundzellen werden nach Reuter allmählich ausgestoßen, und zurück bleiben nur die »Riesen-

zellen«, d. h. wohl besser gesagt, ein Epithelsyncytium ohne Zellgrenzen mit sehr polymorphen Kernen. In diesem Syncytium treten nun allmählich wieder Zellgrenzen und Mitosen auf. Bei ganz objektiver Betrachtung und Vergleich mit meinen Befunden kann der ganze — nach Reuter recht komplizierte — Vorgang eine höchst einfache Erklärung erhalten: durch die das Epithel während der Darmverkürzung treffende Noxe werden zunächst einzelne Zellen geschädigt und durch Zellverschmelzung zwei- und mehrkernige Epithelzellen gebildet, die durch Degeneration der unterliegenden Zellen zu mehrkernigen Rundzellen werden. Während dieses Vorganges wirkt die Noxe immer stärker ein; es gibt immer zahlreichere Zellverschmelzungen, d. h. nach Reuter Riesenzellenbildung. Die degenerierenden Zellen können bei der Massenhaftigkeit der Degeneration nicht völlig aufgelöst werden und werden ausgestoßen, oft wohl mit den phagocytierenden Zellen zugleich. Hört nun die Noxe auf, so erholen sich die Epithelzellen, an denen Zellgrenzen nicht mehr nachzuweisen waren, soweit die Chromatolyse noch nicht an ihnen begonnen hat, und die Zellgrenzen werden wieder hergestellt, worauf dann rasch die restitutio ad integrum erfolgt.

Ich wende mich nunmehr zur genaueren Besprechung meiner Befunde am Dottersack des *Acanthias*. Der Dottersack ist ein Organ, das sich in demselben Maße verkleinert, als der Dotter zum Aufbau des Embryos verwendet wird. Diese Verkleinerung kann einerseits durch Faltenbildung, anderseits durch Zellelimination geschehen. Zellschrumpfung findet dagegen nicht statt. Die Zellelimination interessiert uns hier in erster Linie, und die Art und Weise, wie sie vor sich geht, ist recht gut am Dottersacke des *Acanthias* zu sehen, dessen Epithelgrenzen sowohl an Querschnitten, wie auch ganz besonders bei der Flächenansicht des Epithels deutlich sichtbar sind. Außerdem ist das Epithel streng einschichtig, was seine Untersuchung sehr erleichtert.

Vorweg sei gesagt, daß ich unter einer nicht zu schätzenden Menge von Kernen alle Stadien der Chromatolyse ganz ausnahmslos intracellulär, d. h. nur an solchen Kernen sah, die innerhalb einer andern Zelle lagen, deren Kern kein Zeichen der Schädigung erkennen ließ[1]). Kein Zeichen der Schädigung ist es, daß diese Kerne muldenförmig eingedellt sind. Das scheint mit den Rouxschen Ansichten nicht in Einklang zu stehen. Roux (38) sagt, daß die Zelle mit größter Druckfestigkeit — und den Ausdruck dafür findet er in einer Einwölbung in eine andre —

[1]) Dies gilt für ältere Embryonen (etwa 20 cm). Bei jüngeren (etwa 7 cm) gibt es ganze Bezirke mit massenhaften Chromatolysen. Dann fehlen aber die Zellgrenzen und es handelt sich um eine Art von Syncytium.

Sieger bleibt im Kampf der Teile und fügt nur eine einzige Ausnahme hinzu, indem er sagt: »Freilich kann auch die beim Absterben eintretende Kontraktion zur Kugel bei noch nicht zu bleibender Gestalt differenzierten Zellen, z. B. bei Furchungskugeln ähnliche Gestaltungen hervorbringen«. Wenn nun die HEIDENHAINsche Ansicht zu Recht bestände, daß die absterbenden Zellen in andre invaginiert und nicht von ihnen aufgenommen würden — was aber wenigsten am Dottersack des *Ascanthias* gänzlich ausgeschlossen ist —, so würde hier eine zweite Ausnahme der ROUXschen Regel bestehen. Nach meiner Auffassung aber handelt es sich ja um Zellen, die äußerlich ihre Gestalt, abgesehen von einer Vergrößerung im allgemeinen, völlig erhalten haben, und deren Kern nur durch die kugeligen Inhaltsmassen deformiert ist, wie ähnliche Deformationen bei Schleimzellen, Fettzellen und phagocytierenden Leucocyten häufig sind. Der Kern ist also normalerweise in viel höherem Grade Gestaltveränderungen unterworfen, als die Zelle, ohne daß damit etwas über die Konsistenz beider Gebilde gesagt sein soll.

Am Dottersack des *Acanthias* von etwa 20 cm Länge finden sich die im folgenden zu besprechenden Bilder besonders zahlreich an der dem Tier abgewendeten Seite, gewissermaßen am Grunde des Dottersackes, also an einer Stelle, wo die Zellverminderung für die Verkleinerung des Organes am wirksamsten erscheint.

Die Abbildungen Fig. 1 bis 4, Taf. X, vom Dottersack des *Acanthias* sind Flächenansichten des Epithels, während Fig. 5 einen Querschnitt darstellt. Der Vorgang der Zellelimination spielt sich nun in der Weise ab, daß die Grenze zwischen zwei Zellen verschwindet, wobei man wie in Fig. 1a noch deutlich an den seitlichen Einsenkungen die Lage der geschwundenen Grenze erkennen kann. Die beiden Zellen verschmelzen und die Kerne rücken nahe aneinander wie in Fig. 1b und 2a. Wenn man auch in diesem Stadium morphologisch noch nichts von einer Schädigung eines der beiden Kerne bemerken kann, so glaube ich doch aus einer sehr großen Anzahl von Bildern schließen zu müssen, daß das Schicksal der Kerne schon längst entschieden ist. An weiter vorgeschrittenen Stadien sieht man nämlich die chromatolysierten Kerne in der weit überwiegenden Mehrzahl in den spitzeren Raumwinkeln der Zelle liegen, während die obsiegenden Kerne in solchen Teilen der Zellen liegen, die dem ursprünglichen Zellmosaik am meisten ähneln, deren Raumwinkel sich also einem Winkel von 120° am meisten annähern. Das deutet darauf hin, daß die obsiegende Zelle ihre Lage im Epithel annähernd beibehält, während die später unterliegende in die erstere unter Nachrücken der sie umgebenden Zellen einbezogen wird, etwa so, wie ich es in der Textfig. 3,

x und y schematisch gezeichnet habe, wobei die punktierten Grenzen die des ursprünglichen Epithelmosaiks darstellen sollen. Demnach wäre in Fig. 1b (Taf. XXIX) der nach oben links liegende Kern als der unterliegende zu bezeichnen. Die Chromatolyse geschieht nun in der Weise, daß das Chromatin sich an einzelnen offenbar dazu prädisponierten Stellen (Nucleolen?) sammelt, wobei man eine netzförmige Anordnung noch deutlich erkennen kann (Fig. 5a). Die Kernmembran erhält eine mehr oder weniger unregelmäßig kugelige Oberfläche. Das Protoplasma der unterliegenden Zelle scheint zum größten Teil direkt als lebendes Zellprotoplasma der obsiegenden Zelle übernommen zu werden, während einzelne Bilder, wie z. B. Fig. 5a (unterhalb des Kernes) darauf schließen lassen, daß ein Teil desselben einem ähnlichen Verflüssigungsprozeß unterworfen wird, wie der Kern, was auch nach den von Romeis (37) mitgeteilten Befunden, wonach bei *Ascaris* die Chondriosomen zugrunde gegangener Spermien vom Uterusepithel aufgenommen und verflüssigt werden, durchaus erklärlich wäre. Freilich kann man bei solchen Bildern nie mit Bestimmtheit ausschließen, daß es sich um die Reste der Chromatolyse einer vorher verdauten Zelle handelt, sodaß die betreffende Zelle zwei andre in sich aufgenommen hätte.

Andre Bilder wie Fig. 4 (Taf. XXIX) deuten darauf hin, daß ein Teil des Protoplasmas der unterliegenden Zelle den zugrunde gehenden Kern auch weiterhin umgibt und mit ihm aufgelöst wird. Dabei ist aber zu betonen, daß alle Auflösungsfiguren, sie mögen aussehen, wie sie wollen, selbst wenn um sie herum eine färbbare Randschicht (Rest der Kernmembran oder des Protoplasmas) vorhanden ist, stets durch einen hellen, kugelförmigen Hof von dem Protoplasma der obsiegenden Zelle getrennt sind, also in einer Art Vacuole liegen. Die größeren dieser Vacuolen liegen dem Kern unmittelbar an ohne sichtbare Protoplasmazwischenschicht und rufen Eindrücke in ihm hervor, die genau der Oberfläche einer Kugel entsprechen.

Wenn jene Verdichtung des Chromatins stattgefunden hat, geschieht die weitere Chromatolyse auf verschiedenem Wege, stets aber mit demselben Endeffekt der völligen Auflösung. Der am leichtesten zu beobachtende Auflösungsmodus ist der, daß das gewöhnlich an zwei Stellen der inzwischen bläschenförmig gewordenen Kernmembran gesammelte Chromatin sich verflüssigt und an der Innenfläche der Kernmembran — wenn man von einer solchen noch reden kann — wie ein Flüssigkeitsmeniskus sich ausbreitet, wie es in Fig. 4 dargestellt ist, in der man auch etwas in Auflösung befindliches Protoplasma kugelförmig um den Kern angeordnet und beides von einer Vacuole umgeben sieht. Die Bläschenwand

— ehemals Kernmembran — wird nun immer dünner, vielleicht wird ein Teil ihrer Substanz in die Chromatintropfen mit einbezogen, während gleichzeitig auch der Kernsaft an Masse geringer wird, sodaß die dünne Bläschenwand nicht mehr imstande ist, die offenbar zähen Chromatintropfen in ihrer Form zu beeinflussen. Diese bilden daher, ihrer Oberflächenspannung zufolge, Formen, die sich immer mehr der Kugel annähern und die dünne Bläschenwand vorbuchten. Ein solches Stadium ist in Fig. 2b links vom Kern zu sehen und außerordentlich charakteristisch. Bei weiterer Schwächung der Bläschenwand ist diese überhaupt nicht mehr imstande, die Chromatintropfen zusammenzuhalten, die nun austreten. Die zurückbleibende Bläschenwand schließt sich wieder um die zurückbleibenden Chromatintropfen, sich dadurch als zähflüssige Substanz dokumentierend. In dieser neuen, nur viel kleineren Blase kann sich derselbe Vorgang, wenn auch in kleinerem Maßstabe, wiederholen. Vielfach nehmen auch die austretenden Chromatintröpfchen etwas Kernsaft und Bläschenwand mit, sodaß auch sie nicht immer homogene Kugeln bilden, sondern oft in ihrem Innern eine exzentrisch gelagerte Kugel schwach oder nicht gefärbter Substanz enthalten. In Fig. 3b ist nun die Mehrzahl dieser Gebilde — das dem Kern zunächst gelegene noch von einem deutlichen Bläschenrest umgeben — in einer gemeinsamen Kugel eingeschlossen, die wohl ebensowohl Protoplasmareste als Kernsafteiweiß enthält und in einer Vacuole liegt, während zwei sehr kleine Chromatinpartikelchen sich völlig von den übrigen getrennt haben und mit etwas Eiweiß umgeben in eigenen Vacuolen liegen. Diese Zerstückelung kann gelegentlich sehr weit gehen, und die Resorption dürfte dann schneller vonstatten gehen. Gewöhnlich bleibt aber längere Zeit eine größere Kugel erhalten, deren Inhalt immer formloser und immer schwächer färbbar wird, bis schließlich auch sie völlig resorbiert wird und nur noch eine leere Vacuole zurückbleibt, die — wie Fig. 2c zeigt — immer noch eine Delle im Kern hervorrufen kann. Schließlich schwindet dann auch diese Vacuole, wenn nicht inzwischen neue Zellverschmelzungen eingetreten sind und die Bilder komplizieren. Man sieht nämlich öfter in Zellen so viel Chromatolysefiguren, daß man sie nicht recht von einem einzigen Kern herleiten mag. So muß ich die in Fig. 2b enthaltenen drei Chromatolysebilder, die drei Eindrücke im Kern hervorgerufen haben, auf den Untergang mindestens zweier Zellen beziehen. Für die Entstehung solcher Bilder gibt es zwei Erklärungen. Einmal könnte man annehmen, daß ursprünglich drei Zellen miteinander verschmolzen seien und ein Kern über zwei andre gesiegt habe. Richtiger scheint mir aber die Annahme, daß eine Zelle, nachdem sie eine andre phagocytiert hatte, dadurch in einen Depressions-

zustand gekommen war — Depressionszustände nach Überfütterung sind ja experimentell reichlich erwiesen — und deshalb einer andern, noch normalen Zelle selbst leichter unterlag. Für diese Auffassung spricht auch die Tatsache, daß in solchen Zellen, in denen die Chromatolysebilder reichlich erscheinen, auch meist der eine Teil der Chromatolysen eine viel weiter fortgeschrittene Auflösung zeigt als der andre. Vor allem aber lassen solche Bilder die Richtigkeit dieser Anschauung erkennen, bei denen man in einer großen Zelle neben zwei Kernen, die noch keine Schädigung zeigen, einen in Chromatolyse befindlichen wahrnimmt. Von der Wiedergabe einer derartigen Zeichnung sehe ich aus äußeren Gründen ab.

Oben war erwähnt, daß es viele Wege gäbe, die vom Beginn der Chromatolyse bis zur völligen Auflösung führen. Ich brauche hier nur kurz das andre Extrem zu erwähnen, zu dem es eine Unzahl von Übergängen gibt. Dieses Extrem ist in Fig. 1 c abgebildet. Der dort gezeichnete Kern ist der Auflösung verfallen, ohne daß es zu einer Chromatinanhäufung gekommen wäre. Mit fortschreitender Auflösung hat nur die Färbbarkeit immer mehr abgenommen. Ob dem Loch in der Kernmembran bei dieser Abweichung vom gewöhnlichen Verlauf eine ursächliche Bedeutung zukommt, mag ich nicht entscheiden.

Es bleibt mir nur noch übrig, die Frage zu erörtern, woher es kommt, daß die Chromatolysebilder innerhalb von Zellen mit sonst normalen Kernen liegen. Meine Anschauung geht aus dem Vorhergesagten deutlich hervor und ich habe im folgenden nur nötig, meine Gründe anzugeben.

Über die Ansicht HEIDENHAINS (17), daß derartige Gebilde gar nicht intracellulär liegen, kann ich, nachdem ich eben schon einiges darüber gesagt habe, rasch hinweggehen, denn am Dottersack des *Acanthias* sind die Bilder so klar und die Zellgrenzen so deutlich, daß gar kein Zweifel über die intracelluläre Lage möglich ist. Intercelluläre Chromatolysen wurden hier nie beobachtet [1]). An diesem epithelialen Material habe ich auch nirgends Bilder gefunden, die eine Kernknospung oder Abschnürung oder sonst irgend ein Zeichen dafür erkennen ließen, daß die intracellulären Chromatolysen vom Kern derselben Zelle abstammen. Es haben die Kerne vielmehr eine völlig glatte, der Zellform entsprechende Oberfläche und sind nur durch die die Chromatolysen einschließenden Vacuolen eingedellt. Bei sorgfältiger Beobachtung kann man derartige Dellen nicht für Löcher im Kern halten, durch welche Chromatinmassen austreten. Auch die von den Autoren immer behauptete und der Kernsprossung qualitativ gleich erachtete Amitose konnte hier nicht ein einzigesmal auch

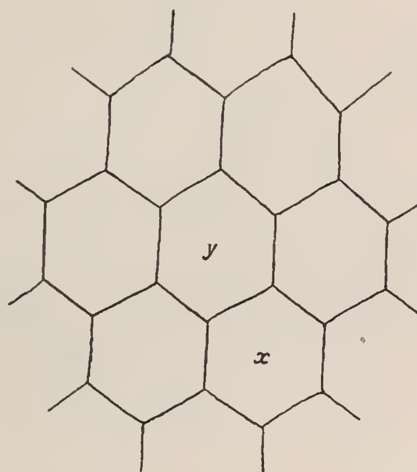
---

[1]) Siehe Anmerkung auf Seite 382.

nur angedeutet beobachtet werden. Dagegen sind die zweikernigen Zellen sehr häufig. Im folgenden wird nun der Beweis erbracht werden, daß es sich im vorliegenden Falle ausschließlich um Zellverschmelzungen handelt.

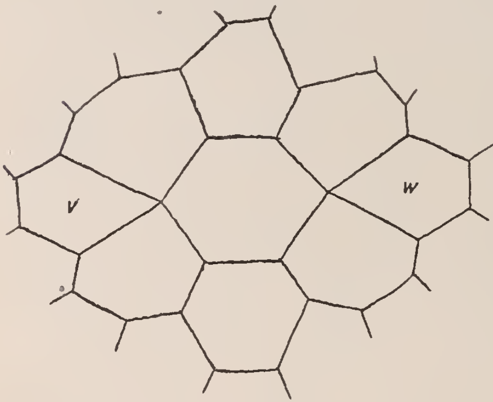
Aus hier nicht zu erörternden Gründen stellen die Zellen eines ruhenden, einschichtigen Epithels im allgemeinen sechsseitige Prismen dar und an einer Prismenkante stoßen mit großer Gesetzmäßigkeit immer nur drei Zellen aneinander. Für ein annähernd rein »kubisches« Epithel, wie es im vorliegenden Falle vorhanden ist, gilt diese Regel noch in viel höherem Grade, als für ein Cylinderepithel, wo die Zellen nicht immer in der ganzen Höhe die gleiche Dicke haben. Fünf- und siebenseitige Prismen bilden die Ausnahme, und ebenso stoßen nur ausnahmsweise einmal vier Zellen an einer Prismenkante (optisch an einer Ecke) zusammen und dann ist immer mindestens eine der vier Zellen ein fünfseitiges Prisma. Daß mehr als vier Zellen unter gewöhnlichen Verhältnissen an einer Zellkante zusammenstoßen, ist ausgeschlossen. In Textfig. 1 ist schematisch das Mosaik gezeichnet, wie es im allgemeinen die Flächenansicht eines einschichtigen Epithels zeigt. Jede Zelle wird von sechs andern begrenzt. Wenn sich nun ein Kern amitotisch teilen würde, so würde das auf die Mosaikfigur überhaupt keinen Einfluß haben, und selbst wenn man annimmt, daß die Zelle dabei wächst, was bei degenerierenden Zellen in einem sich verkleinernden Organ doch sehr unwahrscheinlich ist, so müßte sie schon sehr groß werden, um nur mit einer einzigen andern als den sechs sie primär umgebenden Zellen in Berührung zu kommen (so große Zellen werden höchstens bei dreikernigen beobachtet). Die Zelle würde also im allgemeinen sechsseitig und sechseckig bleiben und an jeder Ecke würden nur zwei Nachbarzellen an sie anstoßen. Solche zweikernige oder mit größerem chromatolytischem Einschluß versehene Zellen finden sich aber nicht im hier besprochenen Material. Denkt man sich nun eine Grenze zwischen zwei benachbarten Zellen, z. B. zwischen x und y, verschmolzen, so wird eine große, zweikernige Zelle daraus entstehen, die im allgemeinen

Textfig. 1.



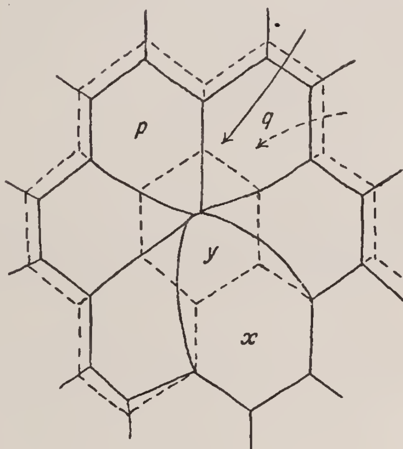
von so viel Zellen begrenzt wird, als beide zusammen vor der Verschmelzung begrenzten, die also, wie aus der Figur ohne weiteres abzusehen ist, von acht — jedenfalls von mehr als sechs — Zellen begrenzt wird. Es ist nun bemerkenswert, daß die Zellen, die einmal mit der Doppelzelle zusammenhingen, ihren Zusammenhang auch dann noch eine Zeitlang bewahren, wenn die Doppelzelle sich durch Resorption schon beträchtlich verkleinert (s. Fig. 1c, Taf. XXIX) oder gar schon die ursprüngliche Größe wieder erreicht hat. Allmählich wird natürlich auch das ursprüngliche Sechseckmosaik wiederhergestellt, indem zwei überzählige Zellen sich von der Begrenzung zurückziehen, aber noch eine Zeitlang an einer Ecke des Sechseckes mit spitzen Winkeln haften bleiben, wie es schematisch die Textfig. 2 (v und w) zeigt, nur daß der Prozeß gewöhnlich nicht an beiden Seiten gleichzeitig erfolgt. Einen Spezialfall der Mosaikveränderung, wie er am Dottersack des *Acanthias* besonders häufig vorkommt, stellt Textfig. 3 dar. Hierbei verschmelzen Zelle x und y, und zwar in der Weise, daß x ihre Lage im allgemeinen beibehält und y in sich einbezieht. Dabei rückt y aus ihrer Stellung heraus in die Zelle x hinein. Nun rücken während dieses Vorganges die fünf (außer x) y umgebenden Zellen centripetal vor, indem sie den Kontakt mit $y + x$ beibehalten und den freiwerdenden Raum auszufüllen streben. So kommt es, daß schließlich an einer Stelle sechs Zellen zusammenstoßen, wie es Fig. 3, Taf. XXIX, u. Textfig. 3 zeigen. Bei solchen gewiß recht seltsamen Rosettenbildern werden die Zellfiguren Fünfecke, stoßen aber doch mit acht Nachbarfiguren zusammen. Derartige Bilder können also schon durch eine einzige Zellverschmelzung zustande kommen, häufiger sind aber zwei oder mehrere — ich habe bis zu fünf gefunden — teils gleichzeitig, teils hintereinander stattfindende Verschmelzungen an der Rosettenbildung beteiligt. Dabei erscheint es zunächst merkwürdig, daß dann in der Regel auch nur sechs oder sieben Zellen die Rosette bilden. Wenn man sich aber die Verschmelzung zweier beoaehteter Rosettenzellen (z. B. p und q in Textfig. 3) vorstellt, so dürften

Textfig. 2.



den Pfeilen entsprechend nur eine, höchstens zwei Zellen bis zum Centrum nachrücken können. Schließlich ist in einer Rosette auch nur für eine bestimmte Anzahl von Zellen, die ja doch immer das Bestreben der Abrundung haben, Platz, und diese Höchstzahl (6 bis 7) hängt von dem Minimum des Raumwinkels ab, den eine Zelle haben kann. Auch folgende Erklärung würde sich mit den Rosettenbildern bei mehreren Verschmelzungen gut vereinbaren lassen: Man könnte nämlich annehmen, daß, wenn einmal eine Rosette gebildet ist, außen angrenzende Zellen mit den Rosettenzellen verschmelzen und deren Stelle einnehmen; liegen doch die Chromatolysen immer nach dem Centrum der Rosette, die Kerne nach der Peripherie zu. Das aber geht mit Sicherheit aus den Rosettenbildern hervor, daß sie nur durch Elimination von vorher im Centrum gelegenen Zellen, und bei Berücksichtigung der Tatsache, daß die Chromatolysen intracellulär nach dem Centrum zu liegen, nur durch Verschmelzung von Zellen entstanden sein können.

Textfig. 3.



Hiernach lag es nahe, derartige Rosettenbilder auch in andern Organen zu suchen, in denen reichlich Chromatolyse auftritt. Oben habe ich schon erwähnt, daß ich die Vorgänge bei Abscheidung der sogenannten »Uterinmilch« auch für intracelluläre Chromatolyse halte, und habe bei dieser Gelegenheit schon auf die Fig. 6, Taf. XXIX, hingewiesen, die die chromatolysierten Kerne intracellulär liegend zeigt. Bei Durchmusterung der Schnitte nach Flächenanschnitten des Uterusdrüsenepithels zeigten sich nun die Rosettenfiguren an solchen Stellen, wo sich zahlreiche Chromatolysen befanden, in überraschend großer Anzahl, oft so dicht liegend, daß eine Rosette unmittelbar an die andre angrenzte. So zeigt Fig. 8, Taf. XXIX, drei Rosetten, die unmittelbar aneinandergrenzen, sodaß einzelne Zellen zwei Rosetten angehören. Die Pfeile *a*, *b*, *c* weisen auf die Centren der Rosetten. Die Rosette *c* konnte nicht weiter ausgezeichnet werden, weil die dem Lumen zugewendeten Epithelgrenzen nicht mehr angeschnitten waren. Der Pfeil *d* weist auf eine Zelle, die offenbar durch Verschmelzung zweier

zustande gekommen ist. In Fig. 7 ist eine Rosette aus einer andern Uterusdrüse dargestellt. Wenn ich mir auch wohl bewußt bin, daß man die Mosaikverhältnisse bei einem hohen Cylinderepithel, zumal wenn es um röhrenförmige Hohlräume herum angeordnet ist (wobei die Zellen höhere, etwas unregelmäßige Säulen sind), nicht so regelmäßig erwarten darf, so lehren doch Flachschnitte durch die verschiedensten Epithelien, z. B. Magengruben, daß selbst hier das Epithelmosaik das bekannte Sechsecknetz fast schematisch zeigt. Daher sind wir berechtigt, stärkere Abweichungen von diesem Bilde auf besondere Vorgänge zurückzuführen. Somit stellt auch hier die Rosettenfigur gemeinsam mit den intracellulären Chromatolysen einen sicheren Beweis für stattgefundene Zellverschmelzungen dar.

Nun sind nicht in allen Organen die Zellgrenzen so leicht und sicher festzustellen, wie in einschichtigen Epithelien, und man wird oft nicht entscheiden können, ob eine Chromatolyse intracellulär liegt oder vielleicht doch intercellulär. Oben habe ich angegeben, daß alle Chromatolysen bei intracellulärer Lage einen kugelrunden, wandungslosen, d. h. direkt vom Zellprotoplasma umgebenen hellen Hof besitzen, den ich für eine Flüssigkeitsvacuole ansprechen muß. Ich kann mir aber nur dann vorstellen, daß eine zwischen mehreren Zellen liegende Flüssigkeitsvacuole kugelrund ist, wenn sie unter einem sehr hohen Druck[1]) steht, was mir in diesem Falle nicht recht wahrscheinlich ist. Daher halte ich mich dazu berechtigt, auch alle jene Chromatolysen im Gewebe für intracellulär anzusehen, die in einem kugeligen, hellen Hofe liegen und eine entsprechende Impression in einem Kern hervorrufen. Eine derartige Zelle bilde ich noch aus den Kiemenplättchen des Salamanders in Fig. 11, Taf. XXIX, ab. Hier handelt es sich ja um ein Organ, das trotz zahlreicher Kernteilungsfiguren, unter Umständen z. B. beim Hungern, wenig wächst und dann ständig Zellemissionen bewerkstelligen muß.

In dem von mir beschriebenen Normalvorgang, der in allen Organen physiologisch vorkommen dürfte[2]), geht die Chromatolyse bis zur restlosen Auflösung weiter. In besonderen Fällen, wo der Zelluntergang massenhaft geschieht, wie bei Abscheidung der Uterinmilch, der Mammarmilch,

---

[1]) Anmerkung: Nun kommt es sicher vor, daß außerhalb der Zellen liegende Dinge sich in dieselben, ja sogar in den Zellkern kugelig vorwölben. Dann handelt es sich aber immer um Dinge, die einen besonderen Druck auszuüben vermögen, wie beispielsweise durch mitotische Teilung entstandene auseinanderrückende Tochterzellen, die, Kugelform annehmend, das Gewebe mit großer Gewalt auseinanderdrängen, oder wenn Zellen verschiedenartiger Gewebe, denen verschiedene Festigkeit zukommt, nahe aneinanderrücken.

[2]) Inzwischen habe ich auch in Organen des Menschen intracelluläre Chromatolysen beobachtet.

der Rückbildung des Darmes während der Anurenmetamorphose und beim Zugrundegehen von Eifollikeln, vermögen die restierenden Zellen die Massen nicht völlig aufzulösen und diese werden — oft unter Mitnahme einzelner umschließender Zellen, eventuell auch nackter Kerne — ausgestoßen.

In allen bisher beschriebenen Fällen von Chromatolyse liegen diese Gebilde innerhalb von Zellen, die sich in lebhafter Lebenstätigkeit befinden oder sind doch mindestens von solchen Zellen unmittelbar umgeben. Nun kommen aber auch zahlreiche Zellemissionen vor an solchen Stellen, wo die Lebenstätigkeit der benachbarten Zellen bereits stark eingeschränkt ist und die Zellen durch scharfe Grenzen — um nicht zu sagen Membranen — von einander getrennt sind. In solchen Fällen finden wir keine Chromatolyse, sondern andere Erscheinungen, wie sie z. B. an den Kernen verhornenden Epithels bekannt sind. Wenn man diese Tatsache mit meinen Befunden zusammennimmt, so wird ersichtlich, daß die Chromatolyse ein rein vitaler Vorgang ist, der nur durch Einwirkung lebender Zellen auf zugrundegehende Kerne hervorgerufen werden kann.

Zum Schlusse möchte ich noch einmal die Ergebnisse der vorliegenden Abhandlung zusammenfassen:

1. Eine Zellschädigung, insbesondere eine Altersschädigung, macht sich zuerst in einer Neigung der Zelle geltend, ihre Eigenart als in sich abgeschlossenes Ganze aufzugeben, die sich in der Regel in einer Verschmelzung mit einer Nachbarzelle äußert.

2. Dementsprechend haben die Zellen der meisten Organe (insbesondere leicht nachweisbar bei den Epithelien) die Fähigkeit, schwache Schwesterzellen in sich aufzunehmen, sodaß zweikernige Zellen entstehen, in denen dann der eine Kern der Chromatolyse verfällt.

3. Auf diese Art geschieht die physiologische Zellelimination, wie sie stattfindet:

a) bei der ständigen Gewebsverjüngung,
b) bei Verkleinerung von Organen, deren Funktion im Laufe der Entwicklung eingeschränkt oder überflüssig wird,
c) bei Organen, die während des Lebens physiologischen Volumschwankungen unterworfen sind,
d) bei manchen Drüsen mit einem aus zugrunde gegangenen Zellen bestehenden Sekret.

4. Echte Chromatolyse ist ein vitaler Prozeß, der bedingt ist durch Einwirkung lebender Zellen auf zugrunde gehende. Er kommt nicht vor in Zellen, die durch die Art ihrer Lage oder Abgrenzung vor der Einwirkung andrer geschützt sind, z. B. bei verhornendem Epithel, nicht

in Zellen, die durch äußere Einwirkung, durch Veränderung ihres Eiweißes (z. B. Koagulation) getötet worden sind.

5. Chromatolyse kommt meist dadurch zustande, daß eine geschwächte Zelle von einer Schwesterzelle aufgenommen und intracellulär verändert wird (intracelluläre Chromatolyse).

6. Gelegentlich kommt wohl auch Chromatolyse durch Einwirkung der Nachbarzellen vor ohne Aufnahme in dieselben oder ohne Verschwinden der Zellgrenzen (intercelluläre Chromatolyse).

Literatur.

1. Aichel, Über Zellverschmelzung mit qualitativ abnormer Chromosomenverteilung als Ursache der Geschwulstbildung. Vortr. u. Abhandl. über Entwicklungsmechanik. Hft. 13.
2. Arnold, Über Teilungsvorgänge an den Wanderzellen usw. Arch. mikr. f. Anat. Bd. XXX.
3. Amann, Kernstrukturen in Uteruskarzinomen. Verhandl. d. deutschen Ges. f. Gynäkol. VI. 1895.
4. Auerbach, Untersuchungen über die Spermatogenese in Paludina vivipara. Jen. Zeitschrift für Naturwissenschaft. Bd. XXX. 1896.
5. Buchner, Die Schicksale des Keimplasmas der Sagitten usw. Festschr. f. Hertwig, Jena, Bd. I, ähnlich Anat. Anzeig. Bd. XXXV.
6. Champy, Recherches sur l'absorption intestinal et le rôle des mitochondries dans l'absorption et à la sécrétion. Arch. d'anat. micr. T. XIII. 1911.
7. Citron, Beiträge zur Kenntnis von Syncoryne Sarsii. Arch. f. Naturgesch. Jahrgang 68. 1902.
8. Des Cilleuls, A propos de la signification physiologique de l'amitose et amitoses provoquées expérimentalement dans l'epithélium des cornes utérines. Compt. rend. Assoc. Anat. 13. Réun. Paris 1911.
9. Ditlevsen, Über Kernknospung im verhornten Plattenepithel beim Meerschweinchen. Anat. Anz. Bd. XXXVIII. 1911. Ähnlich Anat. Anz. 1913.
10. Ehrlich, R., Die physiologische Degeneration der Epithelzellen im Askarisdarm. Arch. f. Zellforsch. Bd. III. 1909.
11. Flemming, Über die Bildung von Richtungsfiguren in Säugetiereiern beim Untergang Grafscher Follikel. Arch. für Anat. u. Physiol., Anatom. Abteil. 1885.
12. —— Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. Leipzig 1882.
13. —— Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXIX.
14. Friedemann, Beiträge zur Kenntnis der Anatomie und Physiologie d. männlichen Geschlechtsorgane. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LII.
15. Fuchs, Über die sogenannte »intracelluläre« Entstehung der roten Blutkörperchen junger und erwachsener Säuger. Anatom. Hefte. 22. Band (H. LXVIII).
16. Guieysse-Pellissier, Caryoanabiose et greffe nucléaire. Archive d'anatomie microscop. T. XIII. 1911.

17. Heidenhain, Beiträge zur Topographie und Histologie der Cloake und ihrer drüsigen Adnexe bei den einheimischen Tritonen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXV. 1890.
18. Hertwig, R., Über physiologische Degeneration bei Actinosphaerium Eichorni nebst Bemerkungen zur Ätiologie der Geschwülste. Festschrift für Haeckel, Jena 1904.
19. Henricus, Über die Entwicklung der Placenta bei der Katze. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXVII.
20. Jörgensen, Beiträge zur Kenntnis der Eibildung, Reifung, Befruchtung und Furchung bei Schwämmen (Syconen). Archiv f. Zellforsch. Bd. IV. 1910.
21. Kühn, Über determinierte Entwicklung bei Cladoceren. Zoolog. Anzeiger. Bd. XXXVIII.
22. Loeb, L., Über Regeneration des Epithels. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. VI. 1898.
23. Lukjanow, Beiträge zur Morphologie der Zelle. I. Archiv für Anat. u. Physiol., Physiol. Abteil. 1887, Supplem.-Bd.
24. Martin, Die Milchdrüse, in Ellenberger, Handbuch der vergleichenden mikrosk. Anatomie der Haustiere. Berlin 1906.
25. Michaelis, Beiträge zur Kenntnis der Milchsecretion. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LI.
26. Nauwerk, Amitotische Kernteilungen. Anatom. Anzeig. Bd. XV.
27. Nissen, Über das Verhalten der Kerne in den Milchdrüsen während der Absonderung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXVI.
28. Nussbaum, Zur Rückbildung embryonaler Anlagen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXI.
29. Nusbaum und Oxner, Studien über die Wirkung des Hungerns bei den Nemertina. Archiv f. Entwicklungsmechanik. Bd. XXXIV.
30. Ottolenghi, Beitrag zur Histologie der funktionierenden Milchdrüse. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LVIII.
31. Plate, Über regenerative Amitose, Degenerationserscheinungen und Phagocytose in den Atemröhren der Yanellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LI.
32. Rabl, C., Über Bau und Entwicklung der Linse. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXV. Bd. LXVII.
33. Rabl, H., Über das Vorkommen von Nebenkernen in den Gewebszellen der Salamanderlarven, ein Beitrag zur Lehre der Amitose. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLV. 1895.
34. Reichenow, Die Rückbildungserscheinungen am Anurendarm und ihre Bedeutung für die Zellforschung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXII. 1908.
35. Reinke, Über direkte Kernteilungen und Kernschwund der menschlichen Leberzellen. Verhandl. der anat. Gesellsch. 1898. Kiel.
36. Reuter, Über die Rückbildungserscheinungen am Darmkanal der Larve von Alytes obstetricans. II. Teil. Anatom. Hefte. I. Abteil. Bd. XV.
37. Romeis, Beobachtungen über Degenerationserscheinungen bei Chondriosomen usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXX. 2. Abt.
38. Roux, Kampf der Teile im Organismus. Gesammelte Abhandlungen. Bd. I.
39. Ruge, Vorgänge am Eifollikel der Wirbeltiere. Morpholog. Jahrb. 1889. Bd. XV.
40. Schaxel, Die Morphologie des Eiwachstums und der Follikelbildungen bei Ascidien. Archiv für Zellforschung. Bd. IV.
41. Tandler und Gross, Saisondimorphismus des Maulwurfhodens. Archiv für Entwicklungsmechanik. Bd. XXXIII.

42. Wetzel, Das Vorkommen von Kernen der Granulosazellen in den Ovarialeiern von Pelias berus. Verhandl. der physiolog. Gesellschaft Berlin. Jahrgang 1901/1902.
43. Young, The somatic nuclei of certain cestodes. Archiv für Zellforschung. Bd. VI.
44. Zawarzin, Beobachtungen an dem Epithel der Descemetschen Membran. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXIV.

Tafelerklärung.

Tafel XXIX.

Fig. 1—4 Flächenansichten des Dottersackepithels von *Acanthias vulgaris*. (Embryonen von etwa 20 cm Länge). Hom. Immers. 1/12. Ocul. III.

Fig. 1. *a*. Zweikernige Zelle kurz nach der Verschmelzung. *b*. Zweikernige Zelle mit aneinandergelagerten Kernen. *c*. Kern tief durch eine Vacuole eingedellt, in der die Reste einer phagocytierten Nachbarzelle liegen.

Fig. 2. *a*. Zweikernige Zelle mit dicht aneinanderliegenden Kernen.

b. Zelle mit drei Vacuolen, die drei Eindellungen im Kern hervorgerufen haben, und Inhaltsmassen, die in verschiedenen Stadien der Chromatolyse sich befinden, aber auf mehr als eine aufgenommene Zelle bezogen werden müssen.

c. Zelle mit Vacuole, die auch den Kern eindellt, als letzter Rest einer Phagocytose.

Fig. 3. Typische »Rosette«. *a* und *b* zwei Zellen mit verschieden weit fortgeschrittener Chromatolyse.

Fig. 4. Einzelne Zelle mit aufgenommener, chromatolysierter Nachbarzelle, von sieben Zellen begrenzt, deren eine nur noch mit einer Spitze an die Zelle stößt.

Fig. 5. Querschnitt durch das Dottersackepithel des *Acanthias*.

a. Zelle mit frühem Stadium;

b. Zelle mit spätem Stadium der intracellulären Chromatolyse. Hom. Immers. 1/12. Ocul. III.

Fig. 6. Querschnitt durch das Epithel der Uterusdrüsen der Katze. Zwei Zellen mit intracellulärer Chromatolyse. Hom. Immers. 1/12. Ocul. III.

Fig. 7 und 8. Flachschnitte des Drüsenepithels des Katzenuterus. Rosettenbildung. Hom. Immers. 1/12. Ocul. III.

Fig. 7. Rosette von sechs Zellen.

Fig. 8. *a*. Rosette von sechs (bis sieben) Zellen; *b*. Rosette von sechs Zellen; *c*. Rosette von sechs Zellen; *d*. Zelle, offenbar aus zwei eben verschmolzenen Zellen entstanden.

Fig. 9. Schnitt durch einen Eifollikel mit abnormer Richtungsspindel vom Meerschweinchen. Zwei an die innere freie Oberfläche (rechter Rand) anstoßende Zellen. In den die Kerne eindellenden Vacuolen Chromatolysen. Zellgrenzen nicht sichtbar, Hom. Immers. 1/12 Ocul. III.

Fig. 10. Aus demselben Schnitt. Gewebsbröckel aus dem Innern des Follikels nur mit einer Brücke bei *a* mit der Wand zusammenhängend. Bei *b* und *c* Chromatolysen in Hohlräumen des zerrissenen Protoplasmas. Hom. Immers. 1/12 Ocul. III.

Fig. 11. Aus einem Kiemenplättchen eines Salamanders. Die chromatolytischen Figuren liegen in zwei Vacuolen, die den Kern eindellen. Zellgrenzen nicht bestimmbar. Hom. Immers. 1/12. Ocul. I.

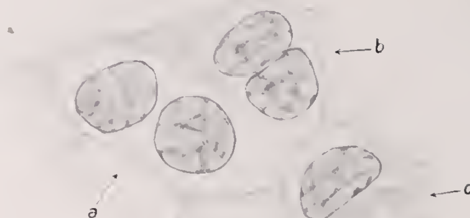


Fig. 1



Fig. 2



Fig. 6

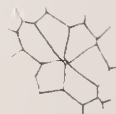


Fig. 7

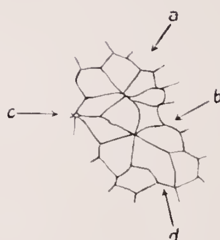


Fig. 8



Fig. 3

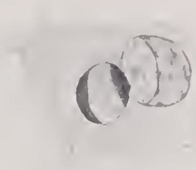


Fig. 4

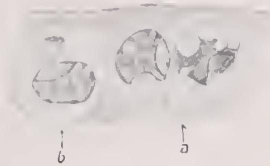


Fig. 5



Fig. 9

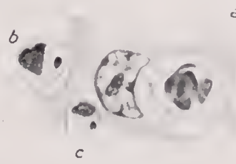


Fig. 10



Fig. 11

ann in Leipzig und Berlin.

Die Besamung der jugendlichen Ovocyte und die Befruchtung bei Saccocirrus.

Von

Paul Buchner.

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Mit 2 Textfiguren und Tafel XXX—XXXI.

Inhalt.

1. Das Vorkommen frühzeitiger Besamung im Tierreich.

Die Zeit der Besamung des tierischen Eies gemessen an seinem Entwicklungszustand unterliegt nahezu allen erdenklichen Schwankungen. Sowohl die jugendliche Ovocyte, als auch die nahezu zur Reifeteilung bereite Ovocyte, die eben die Teilungen erleidende und die mit definitivem weiblichem Vorkern ausgestattete Zelle vermag besamt zu werden. Der einzelne Typus aber ist jeweils erblich fixiert, Variationen dieses Zeitpunktes fehlen. Denn, entweder ist es ein ganz eng begrenzter Entwicklungszustand, in dem das Ei besamt wird und den das Ei nicht überschreitet, es sei denn unter dem Anreiz eines eingedrungenen Spermiums. Das ist z. B. in den nicht seltenen Fällen so, wo die Ovocyte das Stadium der Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung unbesamt nicht in die Anaphase übergehen läßt. Oder aber ein längerer Ausschnitt aus der Entwicklungsgeschichte der Ovocyte ist in gleicher Weise befähigt, das Sper-

mium aufzunehmen, dann ist ebenso das hierzu erst mögliche Stadium streng fixiert, allerdings nicht immer morphologisch, sondern durch einen uns in seinem Wesen noch unbekannten »Reife«zustand. So beim *Asterias*-Ei, das von diesem schon vor Auflösung des Kernes zur ersten Reifeteilung gelegenen Zeitpunkt an bis zum Ablauf der Reifeteilungen das Spermium aufzunehmen vermag.

Bei diesem Objekt folgt unmittelbar auf das Besamen das Einsetzen der Reifeteilung. »Besamungsreife« und Teilungsreife decken sich also zeitlich, eine Änderung in der Chromosomenstruktur des Eikernes oder ähnliches findet nach dem Eindringen des Spermiums nicht mehr statt.

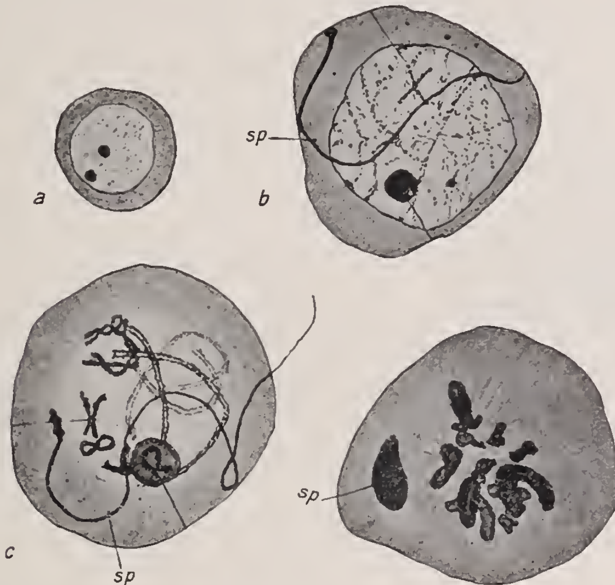
Alle Fälle nun, bei denen dies nicht der Fall ist, müssen wir als vorzeitige Besamung auffassen, als Besamung jugendlicher nicht teilungsreifer Ovocyten, und eine erst noch nach ihr ablaufende morphologische oder auch nur rein physiologische Veränderung im Ei muß sich nachweisen lassen. Man hat ein solches Verhalten wiederholt aufgefunden, nur sind die Umwandlungen natürlich, wenn die zeitliche Differenz zwischen Besamungsreife und Teilungsreife kurz ist, entsprechend geringfügig und zudem meist nicht genau studiert. Als Ort der letzten Veränderungen kommt dann nur der Kern in Frage. Als Beispiel sei *Brachycoelium* nach den Beobachtungen von v. Kemnitz angeführt (s. Textfig. 1). Wenn am Ende der Wachstumsperiode das Spermium eintritt, sind die Tetraden des Bukettstadiums nahezu rückgebildet und im Kern ein Reticulum vorhanden; während der nun einsetzenden Reorganisation und Kondensation der Tetraden liegt das Spermium abwartend und sich nur wenig verändernd im Plasma. Mit geringen Variationen scheint ein solches Verhalten bei den Trematoden allgemein verbreitet zu sein und ähnliches scheint bei andern Würmern vorzukommen (rhabdocöle Turbellarien [Bresslau], *Dicrocoelium* [Goldschmidt, Schellenberg], *Zoogonus* [Wassermann]). Immer aber ist auch hier das Wachstum und die Reservestoffbildung des Eies zur Zeit der Besamung vollendet. Eine noch frühzeitigere Besamung, die auch vor dem Wachstum und den damit verknüpften Prozessen stattfindet, ist dagegen ein ganz vereinzeltes Vorkommen und bisher nur in zwei völlig gesicherten Fällen bekannt geworden. Auf einen von beiden beziehen sich die nachstehenden Mitteilungen; es sei daher auf die Literatur dieser Fälle etwas genauer eingegangen.

Die ersten, ziemlich kurz gehaltenen Angaben bringt F. Hempelmann für *Saccocirrus* (1906). Er beschreibt, wie die Spermien aus dem Receptaculum durch einen feinen Kanal in die Gonade wandern und nur deren Köpfe in diejenigen Eier eindringen, die mit der Dotterbildung

fertig sind. »Vereinzelt kommt es auch vor, daß ein Spermatozoon in eine der hellen Ovocyten dringt, die noch in der Bildung des Dotters begriffen sind«, und etwa die Hälfte der definitiven Größe erreicht haben.

Unmittelbar darauf und unabhängig von HEMPELMANN erschien im gleichen Jahre eine Mitteilung von VAN GAVER und STEPHAN über das gleiche Objekt, die ebenfalls von frühzeitiger Besamung, aber verbunden mit Polyspermie spricht; die Autoren hielten jedoch specifische Dotterkugeln für Resorptionsfiguren der nach ihnen lediglich trophische Bedeutung besitzenden Spermien.

Textfig. 1.



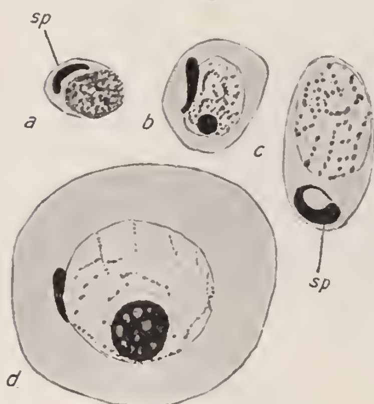
1907 zwingt sie bereits die Kenntnis der HEMPELMANNschen Untersuchung, ihre gänzlich irrigen Ansichten zu verbessern; sie erkennen nun die wahre Natur der »zerfallenden Spermien«, finden das von HEMPELMANN gefundene wirkliche Spermium in allen Ovocyten auch der dotterbildenden Eier wieder und machen die richtige Beobachtung, daß in den jungen Stadien nur der Kopf, in späteren auch der sehr lange Schwanz nachweisbar ist. Diese Merkwürdigkeit erklären sie nach wie vor durch Polyspermie. Figuren enthalten beide Mitteilungen nicht.

1912 kommt HEMPELMANN abermals gelegentlich einer eingehenden Darstellung der Geschlechtsorgane von *Saccocirrus* auf die Frage zurück, ohne bezüglich der uns interessierenden Dinge viel über seine ersten

Angaben von 1906 und die von VAN GAVER und STEPHAN hinauszugehen. Als Zeitpunkt der Besamung wird nun die Zeit kurz nach Auflösung des Bukettstadiums festgestellt, die Beteiligung des Schwanzfadens und Polyspermie jedoch in Abrede gestellt und die Umbildung des Kopfes zum Vorkern beschrieben.

Soweit die Literatur über *Saccocirrus.* (Siehe auch Nachtrag.) Ihm reihen sich seit 1907 allöocöle Turbellarien an. VAN HOFSTEN, ohne die *Saccocirrus*-Literatur zu kennen, berichtet anläßlich einer anatomischen Studie, daß sich bei *Otomesostoma auditivum* Forel u. Du Plessis nicht nur in den Lücken des Ovarialparenchyms überall Spermien finden, sondern auch in jeder einzelnen Ovocyte auf allen Entwicklungsstadien, bis zu den allerkleinsten. Sie lassen keinen Schwanz erkennen, — er wird wohl, wenn er mit eindringt, rasch resorbiert, — und liegen mehr oder weniger gebogen dem Kern dicht an (Textfig. 2).

Textfig. 2.



Man hat diesen Befund VAN HOFSTENS angezweifelt. C. H. MARTIN und BRESSLAU haben die Ansicht ausgesprochen, daß es sich um eine Täuschung handle und daß tatsächlich Dotterkerne vorlägen. Man muß gestehen, daß die ersten Abbildungen des Verfassers eine solche Vermutung wohl berechtigten. Seine eingehendere Darlegung, die durch diese Bedenken veranlaßt wurde, macht seine Angaben aber zur Gewißheit. Aus seinen Figuren geht als wahrscheinlich hervor, daß die Ovocyte schon vor dem leptotänen Bukettstadium infiziert wird, jedenfalls steigt das Volumen der Zelle nach der Besamung noch etwa um das 100fache! VAN HOFSTEN macht nun auch noch die ergänzende Mitteilung, daß auch andre allöocöle Turbellarien (*Otoplana intermedia* du Plessis und *Plagiostomum lemani* Forel u. du Plessis) eine relativ frühzeitige Besamung im Ovar aufweisen.

Da BRESSLAU nach wie vor die Existenz einer so ungewöhnlichen Besamung nicht einräumen will (1911), und es vorzieht, an eine Verwechslung mit Dotterkernen zu glauben, kommt VAN HOFSTEN zum dritten Male auf die Frage zurück (1911) und weist die ohne Zweifel nicht gerechtfertigten Einwände und die schließlich von BRESSLAU zu Hilfe genommene Hypothese einer lediglich trophischen Bedeutung des Spermiums zurück.

Neben diesen Turbellarien und neben *Saccocirrus* muß nun endlich noch über Angaben Shearers bezüglich *Dinophilus* berichtet werden (1911), die jedoch so viel des zunächst Unglaublichen enthalten, daß sie vorerst lediglich gebucht seien. Nach ihm werden schon die embryonalen Geschlechtsdrüsen von Spermien durchsetzt und die jüngsten Ovogonien besamt. Der Spermakopf verschmilzt mit dem Ovogonienkern, und erhält sich in ihm, meist in Verbindung mit der Kernmembran. Die Vermehrungsteilungen sollen amitotische sein und der männliche und weibliche Kernteil unabhängig voneinander sich in gleiche Teile zerschnüren. 40 bis 50 solche Teilungen sollen stattfinden, bis eine differenzierende Teilung einsetzt, bei der nur eine Zelle das Spermaderivat bekommt; die Ovocyten, mit männlichem und weiblichem Anteil werden zu Weibcheneiern, die mit nur weiblichem zu Männcheneiern. Ich habe *Dinophilus*-Ovarien auf jene Kernduplizität hin geprüft und zunächst nichts Atypisches gefunden, was sich mit Shearers Figuren decken würde. Am wahrscheinlichsten dünkt es mir, daß der Autor auf seine Angaben von einer Kernduplizität durch etwas atypische Nucleolarverhältnisse gekommen ist[1]).

Durch Zufall beobachtete ich die frühzeitige Besamung bei *Saccocirrus* und begann sie zu studieren, bevor ich von der darüber bereits vorhandenen Literatur Kenntnis hatte. Da diese voll von Widersprüchen und Lücken ist, und die Abbildungen hierzu manches zu wünschen übrig lassen, habe ich die Untersuchung dennoch zu Ende geführt und glaube mit ihr die Kenntnis dieses Unikums in der Befruchtungslehre um einiges gefördert zu haben. Lücken zeigt die Darstellung auch jetzt noch, die auszufüllen mir aus zwei Gründen nicht möglich war. Einmal war das mir vorliegende Material lediglich mit Sublimat fixiert, während eine Färbung mit der Bendaschen Methode zum genaueren Studieren des Schicksals der Mitochondrien nötig gewesen wäre und ferner stellte sich das Studium lebender zerzupfter Ovarien als sehr wünschenswert für die Erkenntnis der frühesten Besamungsstadien heraus.

2. Die Spermiogenese von Saccocirrus.

Um die Wertigkeit der in das Ei eindringenden Teile des Spermiums mit Sicherheit festzustellen, obliegt es uns zunächst, die Histogenese des

---

[1]) Herr Dr. Nachtsheim, der die *Dinophilus*-Frage einer eingehenden morphologischen und experimentellen Untersuchung unterzieht, ermächtigt mich, mitzuteilen, daß nach seinen Beobachtungen allerdings die *Dinophilus*-Eier (Männchen- wie Weibchenerzeugende) als junge Ovocyten erster Ordnung besamt werden, die Angaben Shearers über Besamung und amitotische Teilungen der Ovogonien aber nicht zu Recht bestehen.

Saccocirrus-Spermiums kurz zu erörtern. Dies ist um so nötiger, als die Darstellung, die HEMPELMANN hiervon gibt, als nicht ganz zutreffend bezeichnet werden muß.

Die Spermatocyten erster Ordnung liegen, durch einen Cytophor vereinigt, als Rosetten in der Leibeshöhle. Die beiden Reifeteilungen haben wir nicht weiter studiert, da das Objekt hier wie bei der Eireifung für chromosomale Studien recht ungeeignet ist. Man wird daher wohl auch HEMPELMANNS Darstellung der Tetradengenese nicht so ohne weiteres hinnehmen dürfen. Wenn er das Bukettstadium als ein Spirem auffaßt, das erst später in die Normalzahl von Chromosomen zerfällt, setzt er sich in starken Widerspruch zu den wohl allgemein angenommenen Darstellungen dieses Punktes, zumal er nichts von einem natürlich auch hier deutlich zu konstatierenden leptotänen und pachytänen Zustand spricht. Das Vorhandensein der Mitochondrien entging ihm hier wie auf den Stadien der Spermiogenese. Wir finden sie bereits während der Vermehrungsteilungen in fein-staubförmigem Zustand. Sie umgeben die Spindelfigur als ein Mantel, sie selbst und die äußerste Peripherie der Zelle frei lassend und bleiben auch während der Teilungsruhe erhalten. Ob die Beobachtung, die ich wiederholt machte, daß vor das Stadium eines einheitlichen Kernbläschens ein lockerer, sich erst allmählich verdichtender Karyomeritenhaufen eingeschaltet wird, auf eine ständige Erscheinung schließen läßt, weiß ich nicht mit Bestimmtheit anzugeben.

Die Mitochondrien konzentrieren sich in der jungen Spermatide zu einem ziemlich dichten Haufen, der dem Kern eng anliegt (Fig. 23). Aus dieser reichlichen Ansammlung verdichten sich allmählich drei regelmäßige Mitochondrienkugeln, die sich durch ihre homogene Struktur, ihre scharfen Umrisse und einen schmalen, körnerfreien Hof scharf von den zu ihrem Aufbau nicht verwendeten Mitochondrien (Fig. 24—27) abheben. Während sie ihren größten Umfang allmählich erreichen, verändert der Spermatidenkern, der einen feinen punktförmigen Nucleolus enthält, seine Form. Er flacht sich zunächst dort, wo die Kugeln anliegen, etwas ab, die Basis wird entsprechend den Kanten des Kugeldreieckes ebenfalls etwas dreieckig (Fig. 25); diese Abflachung schreitet immer weiter fort, so daß alle Übergänge zu einem Kern führen, der die Form eines Pilzhutes bekommt (Fig. 29, 30). Die Seitenansichten dieser Stadien wechseln natürlich, je nachdem eine oder zwei der Kugeln zu sehen sind. Entsprechend verengt sich der Kern im ersten Fall nach unten (Fig. 28 oben links), und überragt die Mitochondrienkugel, oder die Kugeln sehen im zweiten Fall seitlich über dem halbkreisförmig aufsitzenden Kern hervor (Fig. 28). Zu dieser Zeit ist der Kerninhalt noch fast gar nicht verdichtet; zunächst

neigt hierzu nur die basale Begrenzung desselben. Diese wird dadurch, zumal wenn sie beginnt, sich etwas nach oben in den Kern einzudrücken, sehr scharf begrenzt (Fig. 29). Der größte Teil der nicht verwendeten Mitochondrien schwindet in der Folge (auf den E. H.-Präparaten. Es macht jedoch den Eindruck, daß sie nicht im Spermatidenplasma sich zerstreuen und auflösen, sondern daß sie allmählich noch in die Kugeln einbezogen werden; dafür sprechen Bilder wie Fig. 26, wo der letzte Rest diesen dicht angelagert ist). Regelmäßig sind außer diesen noch drei weitere, kleinere Kondensa vorhanden, die sich rasch nach der ersten Anlage des ersten Kugeltrios bilden. Es sind viel kleinere Kügelchen, die zwischen diesen in den drei freien Winkeln stehen. Ich sah sie zum ersten Mal, als der Kern sich abzuflachen begann, diesem an der äußersten Peripherie ansitzend. Das Schicksal dieses zweiten Kugeltrios weiter zu verfolgen, wäre von Interesse. An meinen Präparaten bot dies jedoch Schwierigkeiten. Etwas später fand ich sie oft abgerückt und durch eine feine chromatische Brücke mit dem ursprünglichen Platz am Kern verbunden (Fig. 28). Die drei großen Kugeln, die, wie ihr späteres Schicksal erkennen läßt, dem gewöhnlichen Nebenkern der Spermatide entsprechen, zeigen konstante Größendifferenzen. Stets ist eine Kugel beträchtlich größer, was besonders deutlich wird, wenn die Lage der Zelle eine derartige ist, daß eine kleinere daneben liegt (Fig. 28—30). Wenn der Kern sich abflacht, ist auch die erste Anlage der Schwanzgeißel vorhanden, die sich von der Zellgrenze bis zwischen die drei Kugeln verfolgen läßt (Fig. 28ff.).

Aus diesen geht die mitochondriale Umhüllung des Schwanzfadens hervor. Sie strecken sich in die Länge, indem sie sich zunächst nach unten etwas zuspitzen. Hierbei wird ihre verschiedene Größe besonders deutlich, da anfangs eines der Teilstücke beträchtlich tiefer reicht als die übrigen (Fig. 20). Der Kern flacht sich hierbei noch mehr ab und rückt etwas weiter weg von dem Nebenkernapparat, der sich bald rettichförmig verlängert, ohne seine Dreiteiligkeit zu verwischen.

Auf einem nächsten Stadium erscheint plötzlich der vordere gebogene Teil des Kernes stark verdichtet, der hintere, dem nun ein deutliches Centriol ansitzt, dagegen chromatinärmer als vorher (Fig. 31). Auch das Gesamtvolumen ist nun stark verringert worden und der hinter der chromatischen Kappe liegende Teil des Kernes wird dunkler und homogen (Fig. 32). Die Streckung des Kopfes und die rasche Verlängerung des Mitochondrienmantels um die auswachsende Geißel leiten über zum definitiven Spermatozoon. Zunächst färbt sich der ganze Kopf intensiver und spitzt sich etwas herzförmig vorn zu (Fig. 33), wenn die Mitochondrien-

hülle noch ein großes Stück des Schwanzes frei läßt. Mit der Verlängerung des Kopfes geht natürlich seine Verschmälerung Hand in Hand (Fig. 34). Es resultiert die lange Stabform, die sich selten im Hoden, aber stets in den Receptakeln des Weibchens findet und wie wir sehen werden, auch stets in den jungen befruchteten Eiern vorliegt. Die Länge des ganzen Spermiums konnte ich nicht feststellen, da ich keine lebenden Tiere zu Ausstrichen besaß. Hempelmann teilt uns mit, daß sie wenig kürzer als 1 mm sind. Wir haben es also mit außerordentlich langschwänzigen Spermien zu tun, was verwundern muß, wenn man bedenkt, daß die Gelegenheit zur Bewegung eine nur sehr geringe ist (vgl. Abschnitt über Begattung und Bau der weiblichen Geschlechtsapparate). Hempelmann hat auch bereits beobachtet, daß der Schwanzfaden später gespalten wird. Ich konnte nicht feststellen, ob dies durch eine tatsächliche Spaltung der Schwanzfibrille bedingt ist, oder, was ebensowohl möglich ist, nur mit einer Umordnung in der mitochondrialen Hülle zusammenhängt.

Hempelmann hat von der Genese der Spermienteile wohl einige Stadien gesehen, sich in ihrer Deutung aber geirrt. »Das Chromatin sammelt sich etwas hinter dem Äquator des Kernbläschens, das selbst sehr hell und durchsichtig erscheint. Dabei fallen immer drei große, in der Mitte zusammenstoßende kugelige Gebilde auf, die sich ebenso intensiv färben, wie das am Rande verteilte Chromatin. Hinter dem Kernteil bildet sich eine nicht ganz so dunkel zu färbende Masse, das Mittelstück, von dem nach hinten der Schwanzfaden ausgeht. Das Ganze streckt sich mehr und mehr. Es wird auch eine Art Spitzenstück vor dem Kern gebildet. Die dunkle Masse des Mittelstückes zieht sich bei der Streckung immer dünner werdend weit nach hinten . . . Teilweise lassen diese Spermatiden auch jetzt noch einen dreiteiligen Querschnitt des Kopfstückes erkennen, der wohl von dem erwähnten, aus drei Kugeln zusammengesetzt erscheinenden Körper herrührt.«

Der Vergleich dieser Schilderung und der sie illustrierenden Bilder mit unseren oben auseinandergesetzten Beobachtungen ergibt, daß Hempelmann die Mitochondrien in der Spermatide vor der Verdichtung zu Kugeln entgangen sind. Die Kugeln hält er für Kernchromatin, während tatsächlich nur der kleine helle Teil dieses enthält. Das erwähnte weniger dunkle Mittelstück stellt den allmählich schwindenden Teil der Mitochondriengranula dar, liefert also nicht (oder höchstens noch zu einem ganz kleinen Teil) die Schwanzhülle, die vielmehr den für Kernchromatincondensa gehaltenen Kugeln ihren Ursprung verdankt. Der stabförmige Kopfteil enthält also lediglich Kernchromatin, hinter ihm liegt ein Centriol, an dem die von Mitochondrien umhüllte Geißel inseriert.

Eine reinlichere Scheidung von Kernchromatin und Mitochondrien als die HEMPELMANNS ist bei der augenblicklichen Bedeutung der Frage nach der Rolle der letzteren im besamten Ei natürlich ein notwendiges Erfordernis.

Von allgemeinerem Interesse für die Kenntnis der Spermiohistogenese ist aus dem Voranstehenden vielleicht die Ausbildung des Mitochondrialapparates. Eine so allmähliche Kondensation von dichten scharf umschriebenen Mitochondrienkugeln aus staubförmigen Mitochondrien nach der letzten Reifeteilung dürfte ziemlich selten sein. Meist stellt der Nebenkern ja sogleich ein kompaktes Gebilde dar. Auffallend ist ferner die absolut regelmäßige 3-Zahl der Kugeln. Hierzu gibt es eine Anzahl Parallelen. Bei Echinodermen und Würmern stellen die Mitochondrien öfters regelmäßige Kugeln dar, die hinter dem Kopf gelegen sind. Dort aber bleiben sie im definitiven Spermium als solche erhalten, während beim *Saccocirrus*, wie gewöhnlich, die allmähliche Streckung des Nebenkernapparates einsetzt.

3. Bau der Geschlechtsorgane des Saccocirrus.

Bevor ich in den cytologischen Teil meiner Beobachtungen eintrete, möchte ich kurz über den Bau der Geschlechtsorgane und die Nephridien berichten, soweit ihre Kenntnis zum Verständnis der Begattung und Besamung notwendig ist. Ich schließe mich dabei lediglich referierend an HEMPELMANNS Ergebnisse an. Die Saccocirriden sind durchweg getrenntgeschlechtlich. Soweit der Mitteldarm die Segmente durchzieht, d. h. bei *Saccocirrus papillocercus* meist vom 15. Segment an, bei *S. major* beim 20., finden sich Gonaden. In jedem dieser Gonaden tragenden Somiten trifft man im männlichen Geschlecht zwei Spermaducte. Sie beginnen mit einem weiten Wimpertrichter in der Leibeshöhle, durchbrechen das nächste Segment, bilden einige Schleifen, nehmen kurz vor ihrer Mündung eine Vesicula seminalis auf und enden seitlich auf der Spitze eines vorstreckbaren mit Cuticularstäben gestützten Penis kurz vor dem Parapodium.

Einfacher gebaut ist der Oviduct des Weibchens. Er beginnt im Cölom mit einem kleineren Trichter, »durchbricht das betreffende Septum, und läuft als gerader Kanal mit bewimpertem ziemlich weitem Lumen in dem oberen Winkel der Seitenkammern des Cöloms, der durch das Herantreten der Transversalmuskeln an die Körperwand gebildet wird, nach hinten und biegt dann rechtwinklig nach der Ventralseite zu um, wobei er seinen Weg zwischen dem ventralen Längsmuskelfeld und der Haut nimmt. Schließlich mündet er etwa in der Mitte des Querschnittes jenes Muskelfeldes, also seitlich ventral, ins Freie«.

Schon längere Zeit kennt man außerdem am weiblichen Apparat einen gemeinsam mit dem Oviduct mündenden Gang, der den Hautmuskelschlauch senkrecht durchquert und zu einem mächtigen Blindsack, dem Receptaculum seminis erweitert. Hempelmann machte die interessante Beobachtung, daß es sich hier tatsächlich um ein ursprüngliches Nephridium handelt. Denn das »Receptaculum« verengt sich wieder und geht in einen engen Kanal über, der dem Ovarium dicht anliegt und von ihm fast ganz umwachsen wird, dieses so durchzieht, das nächste Segment durchbricht und neben dem Trichter des Oviducts einen ebensolchen, nur kleineren, entfaltet. Das Excretionsorgan hat also sekundär die Aufgabe übernommen, den Samen aufzustapeln und in das Ovar zu leiten.

Die Gonaden entstehen am hinteren Rande der Dissepimente, in ungefähr gleicher Weise in beiden Geschlechtern. Die Hoden bleiben jedoch klein, da sich die Spermatocyten vom Keimlager lösen und in der Leibeshöhle die Reifung vor sich geht; die Ovarien wachsen beträchtlich heran. Die Ovogonien und jüngsten Ovocyten finden sich stets in unmittelbarer Nähe des vom Receptaculum kommenden Nephridialkanales, von dem aus die Spermien diese Region des Ovars infiltrieren und die Ovocyten besamen.

Die Eireifung und — nach meinen Beobachtungen in den selteneren Fällen — auch die Verschmelzung der Vorkerne geht noch im geschlossenen Verbande des Ovars vor sich; dann erst fallen die Eier in die Leibeshöhle, die sie oft nahezu erfüllen, da sie nur ruckweise in großer Zahl entleert werden. Erst der Übertritt in das Seewasser ermöglicht das Einsetzen der Furchung.

Die Receptacula sind stets alle prall gefüllt, so daß man schließen muß, daß bei der Begattung die zahlreichen männlichen und weiblichen Geschlechtsöffnungen sich genau decken.

4. Die frühzeitige Besamung der Ovocyte und das Verhalten des Spermiums bis zum Beginn der ersten Reifeteilung.

Nach unsern Beobachtungen stellt sich nun die Besamung des *Saccocirrus*-Eies teilweise anders dar als nach denen Hempelmanns. Die Ovocyten, die ein leptotänes und pachytänes Bukett enthalten, sind stets noch unbesamt. Erst wenn dieses aufgelöst wird und die Bukettschleifen einem zunächst fast stets nach einem centralen Nucleolus orientierten Chromatinreticulum Platz machen, und hierbei die Zelle etwas zu wachsen beginnt, dringt der Spermakopf in deren Plasmaleib ein. Es findet sich

keine Zelle auf dem eben charakterisierten Stadium, die nicht den schlanken stark chromatischen Stab in ihrem Innern besitzt. Da der Plasmamantel der Zelle jetzt noch ein recht geringer ist, liegt der Kopf bald dichter am Kern, bald in der Mitte, bald mehr oberflächlich und ist, da er anfangs länger als der Zelldurchmesser zu sein pflegt, zu einer mehr oder minder scharfen Krümmung oder Knickung gezwungen (Fig. 1—4). Ganz ähnliche Bilder liefern Zellen, die etwas heranwachsen (Fig. 5, 6, 7). Auch sie zeigen keinerlei Andeutung des Schwanzfadens. Plötzlich aber ändert sich dies. Etwa nachdem der Durchmesser der Ovocyte seit ihrer Besamung sich verdoppelt hat, ist neben dem Kopfe der Schwanzfaden deutlich wahrzunehmen. Er überzieht die Oberfläche der Zelle entweder allseitig oder nur teilweise in überaus zahlreichen Windungen. Fig. 8 zeigt die Aufsicht auf ein solches, in der Befruchtungscytologie wohl bisher ganz einziges Bild. Das Ganze gleicht einem dichten Fadenknäuel, in dem die Fäden zwar nach allen Seiten, aber doch vielfach in mehreren parallelen Zügen laufen. Der Schwanzfaden ist viel schwächer färbbar (bei Anwendung von Eisenhämatoxylin und andern Farbstoffen) als der Kopf, den nun der Platzmangel nicht mehr sich zu krümmen zwingt. Das vorherige Fehlen dieser so auffälligen Struktur kann wohl nur so erklärt werden, daß der sehr lange Schwanzfaden sich zunächst noch weithin durch das Follikelgewebe zieht und erst allmählich, nachdem der Kopf schon lange in die Ovocyte eingebohrt ist, nachgezogen wird. Mit Sicherheit ist aber zwischen den Zellen in dem oft undeutlichen Gerinnsel der Schwanz nicht darzustellen, wenn auch gelegentlich Bilder, wie Fig. 6, etwas Derartiges nahelegen. Bedingt ist das durch die außerordentlich geringe Färbbarkeit des Schwanzfadens zu dieser Zeit. Auch auf den ersten Knäuelstadien ist er oft zwar mit Sicherheit zu konstatieren, aber nur äußerst schwach gefärbt. Mit dem weiteren Anwachsen nimmt, wie wir sogleich sehen werden, die Färbbarkeit dagegen ganz enorm zu, so daß die Vermutung besteht, daß das veränderte chemische Milieu den Nachweis wechselnd erschwert und erleichtert. Selbst das sonst Schwanzfäden so scharf tingierende Gentianaviolett versagte völlig.

Allseitig umwickelt sind nur recht junge Ovocyten; das immer mehr fortschreitende Wachstum wird es wohl vor allem bewirken, daß bald die Regel ist, daß der Schwanzfaden nur kappenförmig oder höchstens zur Hälfte die Zelle umgibt. Dabei nimmt die Färbbarkeit des Schwanzes immer mehr zu, so daß er bei Eisenhämatoxylin tiefschwarz erscheint. Trotzdem ist der Kopf stets deutlich von ihm zu unterscheiden und stets noch im Zusammenhang mit ihm. Nie findet er sich in einem andern Teil der Zelle, und gelegentlich kann man den Schwanz unmittelbar in

ihn übergehen sehen. Das allein macht unsre Vermutung bezüglich des Vorhandenseins des Schwanzes auf den jüngsten Besamungsstadien zur einzig möglichen.

Schwanz und Kopf lagern sich unmittelbar in das Plasma ein. Letzterer wird mit dem gesteigerten Wachstum zuerst an die Peripherie gedrängt, an der der Schwanzfaden stets geblieben war. Dieses periphere Plasma wird durch diese Einlagerungen deutlich verändert. Es erscheint grobwabiger, d. h. flüssigkeitsreicher und wird durch eine mehr oder minder scharfe Grenzlinie vom freien Zellplasma geschieden (Fig. 9, 11, 13).

Dabei kommt es sehr oft zu einer recht eigenartigen Deformierung der Ovocyte. Wenn der Schwanzfaden infolge seiner Elastizität eine Schleife bildet, die aus der Oberfläche der Zelle heraustritt, so folgt dem das flüssige Plasma und bildet eine Knospe, die diese Schleifen umfließt, und nur durch einen schmalen Stiel mit der Zelle zusammenhängt, durch den auch der Schwanzfaden zieht. Dabei kann es sich nur um eine oder zwei Schleifen (Fig. 12, 13) oder um zahlreichere handeln (Fig. 11). Ich glaube auch Fälle gesehen zu haben, wo sich der Plasmatropfen ganz löst und dann wohl der Degeneration verfällt. Wir haben es hier mit einem recht hübschen Beweis für den formgestaltenden Einfluß der Fibrillensysteme auf flüssige Plasmen zu tun, der sich dem der Achsenstäbe der Flagellaten und ähnlichem vergleichen läßt, aber nicht in einer zweckmäßigen, sondern nur zufällig gegebenen Konstellation begründet ist. Die Erscheinung erinnert auch lebhaft an die gestielten Bläschen, die z. B. in der Spermatogenese der Hymenopteren oder auch Lepidopteren an Centriolen inseriert an der Zelloberfläche sich bilden und möglicherweise auch durch eine Fibrillenöse bedingt sind.

Die zunehmende Färbbarkeit des Schwanzfadens, die noch durch ein offenbares Dickerwerden desselben gesteigert wird, möchte ich als einen Hinweis darauf deuten, daß an ihm sich Prozesse abspielen, die seine Auflösung einleiten.

Denn auf einem Stadium, das in bezug auf die Größe noch nicht vorgeschritten ist, durch seine Plasmastrukturen aber sich meist als etwas älter erweist, schwindet die ganze Masse der Fibrillen und an ihrer Stelle ist die Eioberfläche mit ebenso stark färbbaren Tropfen bedeckt. Übergänge zwischen beiden Zuständen finden sich kaum. Die Tröpfchen sind von wechselnder Größe, oft in kleine Ketten, die parallel verlaufen, vereinigt (Fig. 15) und so an die Schwanzfäden, aus denen sie wohl durch einen plasmolytischen Vorgang entstanden sind, erinnernd. Es scheint, daß dieser Vorgang sehr plötzlich sich abspielt. Die Tröpfchen liegen, entsprechend der Lage der Schwanzfäden, oberflächlich, oft an einer

Stelle besonders angehäuft und teils völlig im Ovocytenplasma, teils ihm oberflächlich nur ansitzend. Die Differenzierung eines besonderen, den Schwanzfaden führenden und oberflächlich aufsitzenden Plasmas schwindet damit. Gelegentlich sich findende, zwar innerhalb der Follikelhülle, aber entfernt vom Ei liegende Tropfen sind wohl nur durch die Quellung beim Fixieren dorthin geführt worden.

Daß diese Tropfen Schwanzfadenderivate darstellen, belegt besonders deutlich ein Spermium, das, nicht zur Besamung gelangt, den gleichen plasmolytischen Prozeß im Ovarialparenchym erlitten hat (Fig. 16). Der Kopf ist hierbei völlig intakt geblieben, an Stelle des Schwanzfadens sitzt ihm ein keulenförmig zusammengeflossenes Gebilde an. Auch die großen (schwarzen) Tropfen in Fig. 4 sind wohl nicht anders entstanden. Sie finden sich in meinem Material ziemlich häufig.

Auch sonst fließen Spermienschwänze normalerweise bei der Besamung in Tröpfchen zusammen.

So ist dies z. B. von Witschi für Echinodermen für den hier allerdings nackten, nicht mit einer Mitochondrienhülle versehenen Schwanz beschrieben worden.

Die Resorption schreitet aber rasch weiter, denn noch auf fast den gleichen Größenstadien sind diese Tröpfchen spurlos verschwunden. Sie lösen sich im Eiplasma restlos auf, d. h. mit den angewandten Methoden ist ihr weiteres Schicksal nicht zu eruieren.

Anders mit dem stabförmigen Spermakopf. Der findet sich auch nach dem Schwund des Schwanzes in einer jeden Ovocyte in völlig unveränderter Form; nach wie vor liegt er gerade oder — und dies häufiger — etwas geschlängelt im Eiplasma und überdauert so das weitere noch sehr beträchtliche Eiwachstum und die ganze nun erst richtig einsetzende Dotterspeicherung. Nur seine Lage verändert er; er wird nun mehr in die Tiefe der Zelle gezogen, in der Nähe des Eikernes, tangential zu ihm orientiert, am Ende des Eiwachstums allseitig von Dotterkugeln umgeben.

Bevor die Umwandlung des Spermakopfes in den männlichen Vorkern beschrieben wird, sollen mit wenigen Worten die Geschehnisse im Kern und Plasma während des Eiwachstums besprochen werden. Der ursprünglich in der Einzahl vorhandene Nucleolus zeigt zu Beginn der Wachstumsperiode eine Anzahl peripher sich ablösender Nucleolen, die zum Teil bis an die Grenze des Kernes wandern. Gleichzeitig mit dieser Nucleolenvermehrung treten im Plasma die ersten Dotterpartikelchen auf. Sie liegen in einem Kreis um den Kern herum und bieten, je nach dem augenblicklichen Entfaltungszustand ziemlich wechselnde Bilder. In Ein- und Mehrzahl liegen die kleinsten Granula in Flüssigkeitsbläschen,

die sie — allmählich zu großen Kugeln heranwachsend — auf späteren Stadien, d. h. zur Zeit der Schwanzresorption, nahezu ausfüllen. In einem engen Kranz zieht dann meist eine einzige Schicht von Dotterkugeln um den Kern. Dieser ist zu dem von einem specifischen, diese bergenden, dichteren Plasmagürtel umzogen, der sich scharf abhebt gegen das übrige Plasma, das dann außen von den färberisch ganz ähnlichen, aber genetisch verschiedenen Zerfallstropfen des Spermiums begrenzt wird. Das Schicksal beider Strukturen ist auch unmittelbar darauf ein ganz verschiedenes. Während letztere schwinden, so daß die ganze Oberfläche der Zelle wieder völlig nackt wird (Fig. 20, 21), geben die Dotterkugeln kleinere ab und zerfallen in Gruppen von Granula, die zunächst noch eine gemeinsame Vacuole umschließen kann. Die Lage um den Kern wird nun aufgegeben, der Prozeß, der so deutlich unter dem Einfluß des Kerns im Centrum eingesetzt hat, verbreitert sich nach der Peripherie zu, und erfüllt allmählich das ganze Ei, das nun noch wesentlich anwächst, mit Dotterkugeln von wechselnder Größe, die jedoch den großen Dotterkugeln des Stadiums Fig. 18 nie mehr gleichkommen. Die Nucleolen des erwachsenen Eies sind in Ein- oder Mehrzahl vorhanden, die Tetraden als reicher mit Chromatin beschickte Fäden zu konstatieren.

Vergleichen wir, was Hempelmann über die Besamung mitteilt, so stoßen wir auf weitgehende Differenzen. Es bleibt eigentlich nur die Tatsache übereinstimmend, daß nach Ablauf der Bukettstadien die Eizelle besamt wird und der Kopf im Plasma persistiert bis zur Reifeteilung. Das Verhalten des Schwanzfadens aber ist ihm entgangen. Er kommt, da er ihn im Ovarium nie sieht, zur Annahme, daß er in die Ovocyte nicht eindringt. Spätere Stadien, in denen der Spermakopf mit deutlichem Schwanzfaden äußerlich aufsitzt, begegneten Hempelmann zwar hier und da; er deutet sie jedoch als abnormerweise noch ein zweites Mal besamt. Leider bildet er jedoch in der Zelle, die das wiedergibt, den nach dieser Auffassung notwendig tiefer im Plasma vorhandenen zweiten Spermakopf nicht ab. Wir sind der Überzeugung, daß dies auch nicht möglich wäre, denn diese Stadien sind normale und enthalten nur das eine zu dieser Zeit nach der Peripherie verdrängte Spermium.

Die nur für ganz kurze Zeit, und zwar gleichzeitig mit dem Verschwinden des Schwanzfadens erscheinenden oberflächlichen Tropfen beschreibt Hempelmann nicht, bildet sie aber in einer Übersichtsfigur (21, b. Taf. XXVII) in der von uns beobachteten Weise ab.

Die übrigen Untersucher des *Saccocirrus*-Eies, Van Gaver und Stephan halten, wie schon eingangs erwähnt, eine Polyspermie für das Normale. Haben sie auch ihre erste, gänzlich irrige Darstellung verlassen, nach der

die den Kern umgebenden Dotterkugeln, die allerdings nicht selten auch ein senkrecht zur Kernperipherie stehende längliche Form besitzen, je ein Spermium darstellen, das vom Eiplasma resorbiert wird, so halten sie doch auch nach Kenntnis von HEMPELMANNS erster Publikation den Polyspermiegedanken fest. Sie glauben dies auf Grund einer nach unsern Erfahrungen richtigen, von HEMPELMANN in seinen beiden Mitteilungen nicht gemachten Beobachtung tun zu müssen. Sie haben nämlich, wie wir, gefunden, daß in den jungen Ovocyten sich nur je ein Spermakopf, aber kein Schwanz, in den älteren aber ein ganzes Spermium mit dem langen peripher aufgewickelten Schwanzfaden vorhanden ist. Sie glauben auch, wie HEMPELMANN dies für ein zweites, aber normalerweise hinzutretendes Spermium halten zu müssen. Die Einwände gegen eine solche Auffassung sind gewichtige. Einmal wird dadurch nicht erklärt, warum bei der »ersten Besamung« der Schwanz unsichtbar bleibt, ja diese Tatsache wird noch rätselhafter gemacht; dann müßten neben diesen zweiten Spermien die Köpfe der ersten nachzuweisen sein, was auf keinem weitern Entwicklungsstadium des Eies der Fall ist.

Wenn auch in dieser Untersuchung das Verhalten des Schwanzes nicht völlig gesichert dargestellt werden konnte, so scheint mir doch, daß meine Auffassung die Fehler der beiden Vorgänger vermeidend die einzig mögliche ist. An der Hand der Eisenhämatoxylinpräparate kommt man zu dem Schlusse, daß mit dem Schwanz auch die ihn umhüllende Mitochondrienhülle im Ovocytenplasma restlos aufgeht. Es ist aber nicht völlig ausgeschlossen, daß mit Anwendung der BENDA-Methode sich dennoch hierbei eine periphere Aussaat männlicher Mitochondrien im Ei nachweisen ließe. Ich möchte daher die beschriebenen Vorgänge bei *Saccocirrus* nicht ohne weiteres gegen die von MEVES gewollte prinzipielle Bedeutung einer solchen Aussaat anführen, so viele andre Gründe mir gegen die Vererbungskraft der Mitochondrien zu sprechen scheinen.

Es erübrigt noch, einiges über die Morphologie der Dotterbildung zu sagen. Sie stellt ein gutes Beispiel für die Kategorie von Dotterbildungsprozessen dar, die centrifugal, vom Kerne ausgehend, ablaufen und bei denen die Eioberfläche morphologisch keine Rolle spielt, im Gegensatz etwa zu einem Amphibienei. Recht merkwürdig ist hierbei dieser Kranz primärer Dotterkugeln. Bei Bildern wie Fig. 17 eine Anteilnahme des Kernes an den Vorgängen im Plasma zu bezweifeln, scheint nicht gut anzugehen; ja nach meinen kürzlich gemachten Befunden einer zweifellosen Trophochromatinabgabe des wachsenden Insekteneies (BUCHNER 1913) scheint mir die Annahme HEMPELMANNS, daß Teile des Nucleolus es sind, die auf jungen Stadien die Kernmembran besetzen und

durch sie ins Plasma treten, trotz aller gegenteiligen Anschauung der Mitochondrienforscher keineswegs eine Unmöglichkeit. Die Dotterbildung von *Saccocirrus* verdiente wohl eine eingehendere, mit Hilfe aller zu Gebote stehenden Färbungen und Reaktionen ausgeführte Analyse.

5. Ausbildung der beiden Vorkerne und Befruchtung.

Die Reifeteilungen des Eies, die, wie wir schon eingangs erwähnten, noch im Verband des Ovars ablaufen, bieten nichts Besonderes. Der Eikern löst sich, soweit ich es den wenigen Bildern dieser ersten Stadien entnehmen kann, an seiner bisherigen Stelle inmitten des Eies auf, so daß ein heller, dotterfreier Hof mit einer allseitig ihn umgebenden Strahlung entsteht, in deren Centrum die inzwischen kondensierten Tetraden liegen (Fig. 35). So deutliche vier viergeteilte Elemente, wie sie Hempelmann abbildet, finden sich in meinem Materiale nicht, es scheinen mir vielmehr überhaupt mehr Tetraden vorhanden zu sein. Auch kann ich nicht bestätigen, daß das Kernbläschen vor seiner Auflösung an die Oberfläche rückt[1]). Die Richtungsspindel aber tritt natürlich an die Eiperipherie. Sie bleibt in dem durch die Auflösung des Kernes entstandenen dotterfreien Hof. Die Polstrahlung der Teilungsfigur ist schwach entwickelt, manchmal scheint sie zu fehlen. Die Abbildungen Fig. 25, 26, 27 geben Stadien der Metaphase der ersten Reifeteilung und Telophasen der ersten und zweiten Reifeteilung wieder.

Der Spermakopf, der abgesehen von einigen welligen Knickungen bis zur Auflösung des Eikernes unverändert geblieben war, beginnt gleichzeitig mit dieser die Vorkernbildung einzuleiten. Er zieht sich nun zusammen, ähnlich wie dies zur gleichen Zeit bei den Trematoden geschieht, und ist deshalb nur schwer aus der Fülle der Dotterkörner herauszufinden. Im Moment der Kernauflösung (Fig. 35) ist er noch als kontrahierter, mehrfach geknickter Faden vorhanden. Noch während der ersten Reifeteilung wird er aber zu einem unregelmäßigen Klümpchen (Fig. 36, 37). Hempelmann beobachtete zu dieser Zeit in seiner Nähe bereits zwei Teilungscentren. Die Dotterkörner gestatteten mir nicht, ähnliche Beobachtungen mit Sicherheit zu machen.

Auf die Kontraktion des Kopfes folgt sogleich ein Zerfall in Granula. In Fig. 36 setzt dieser schon ein, in Fig. 27 ist er nicht zu verkennen. Sie scheinen bei der Normalzahl 8, die ich allerdings sehr bezweifle, jedoch

[1]) Auch aus seiner diesbezüglichen Figur (56, Taf. XXIV) ist dies nicht zu entnehmen, da der intakte Ovocytenkern viel größer sein müßte; es sei denn, die Proportionen sind willkürliche. Auch das Bukettstadium (Fig. 51) ist im Verhältnis viel zu groß gezeichnet.

zu zahlreich, um darin einen spontanen Zerfall in Chromosomen sehen zu dürfen, wie er auch sonst, wenn auch nur sehr selten am Spermakopf vorkommt. Während der zweiten Reifeteilung tritt keine Veränderung auf (Fig. 38). Wenn jedoch die weiblichen Chromosomen in die Tiefe sinken und ein anfangs stark chromatisches Kernchen entfalten, tut der Spermakopf das gleiche, indem die Chromatinkörnchen sich zu anastomosierenden Fäden lockern (Fig. 39).

Bisher war die Lagebeziehung des Spermiums zur Spindel keine geregelte. Nun liegen beide sich entwickelnde Kerne stets nahe beisammen im Eicentrum. Sie entfalten sich hier zu zwei mächtigen Kernen, die auf dem Stadium völliger Ruhe miteinander verschmelzen (Fig. 39—41).

Hempelmann hat ebenfalls die Verkürzung des Kopfes und die Entstehung des Vorkernes beobachtet, ohne jedoch auf Einzelheiten einzugehen. Was er in seiner Fig. 63 als Spermakern abbildet, ist eine der stets sich in den Eiern noch auf späten Stadien findenden großen stark chromatischen Zerfallskugeln des Nucleolarapparates.

Damit haben wir das merkwürdige Schicksal des Spermiums von der jungen Spermatide bis zum Ende des Befruchtungsaktes verfolgt. Für die Annahme einer lediglich trophischen Bedeutung bleibt natürlich kein Raum mehr. Das endliche Schicksal des Spermakopfes ist ein völlig normales. Es bleibt die Tatsache bestehen, daß wir bis jetzt zwei Tiere kennen, deren Eier schon vor dem Bukettstadium, beziehungsweise unmittelbar darauf, besamt werden und trotzdem noch eine normale beträchtliche Wachstumsperiode durchmachen. Es ersteht die Frage, ob diese Ausnahmen von der Regel eine zweckmäßige physiologische Begründung finden können. Mit Hilfe unsrer morphologischen Kenntnisse läßt sich dies nur als recht unwahrscheinlich hinstellen. Die Spermienköpfe scheinen während des Wachstums des Eies völlig untätig zu bleiben, keinerlei Quellung des Chromatins oder nennenswerte Einwirkungen auf das umgebende Plasma sind zu konstatieren[1]). Wenn man auch die Resorption des stattlichen Schwanzes bei *Saccocirrus* als einen nennenswerten Gewinn für das Ei hinstellen könnte, so muß man doch wieder einräumen, daß bei *Otomesostoma* der Schwanz quantitativ keinerlei Rolle spielt und zudem seine Aufnahme in das Ei nicht erwiesen ist. Man wird wohl eher dazu neigen müssen, überhaupt einer solchen frühzeitigen Besamung keinen besonderen Zweck zuzuschreiben, sondern in ihr das zufällige Resultat anatomischer und physiologischer Komponenten zu sehen.

---

[1]) Zudem können solche lokale Beeinflussungen ebensogut Ausdruck dessen sein, daß das Spermium von dem umgebenden Plasma ernährt wird.

Nachtrag während des Druckes.

Nach Abschluß meiner Untersuchung erschien ein weiterer Beitrag zur Literatur der *Saccocirrus*-Geschlechtszellen von W. B. von Baehr (Über die Bildung der Sexualzellen bei *Saccocirrus major.* Zool. Anzeiger. Bd. XLIII. 1913.) Der Autor studiert in erster Linie die Chromosomenverhältnisse, die wir nicht berücksichtigt haben, und bestätigt unsere Vermutung, daß die Chromosomenzahl eine größere ist und unsere Überzeugung, daß die Angaben Hempelmanns bezüglich der Tetradengenese unrichtig sind. Er konstatiert wie wir ein leptotänes und diplotänes Bukettstadium und findet Anhaltspunkte für die Annahme einer Längskonjugation im Sinne seines Lehrers Gregoire. Auch beim Studium der Samenbildung deckt er den gleichen Fehler Hempelmanns auf, wie wir, und trennt Mitochondrien und Kerne bzw. Kopf richtig. Im einzelnen verfolgt er den Vorgang nicht so genau wie wir.

Die uns hier vor allem aber interessierende Besamung berührt v. Baehr nur kurz. Er geht hierbei über Hempelmanns Erfahrungen nicht hinaus. Während bei meinem Material die Verschmelzung der beiden Vorkerne nur sehr selten im Ovar sich fand, in der Leibeshöhle aber hunderte von Eiern mit je zwei noch gar nicht voll entwickelten Vorkernen lagen, gibt v. Baehr an, daß die Verschmelzung normalerweise im Ovar vor sich gehe und dann das Synkaryon, das zunächst sehr groß ist, im Coelom sich ganz beträchtlich verkleinere. Ich kann etwas Derartiges nicht gut für möglich halten. Es wäre etwas ganz einzig Dastehendes, daß ein bläschenförmiger Kern, noch dazu bei völlig gleichbleibender Zellgröße, sein Volumen ohne sichtbare Abschnürung um ein Vielfaches verringere. Jener verkleinerte Kern (Fig. 34) sieht nach meinen Erfahrungen einem noch unentfalteten Vorkern sehr ähnlich. Darin, daß Hempelmanns Fig. 63 keinen männlichen Vorkern zeigt, stimmen v. Baehr und ich überein.

Literatur.

Bresslau, A. Referat. Zool. Zentralblatt. Bd. XV. 1908.

—— Referat. Ebd. Bd. XVII. 1911.

Buchner, P. Über trophochromatische Karyomeritenbildung im Insektenei und die Chromidienlehre. Biol. Zentralblatt. Bd. XXXIII. 1913.

Gaver, van u. Stephan. Intervention des spermatozoides dans l'ovogénèse chez Saccocirrus papillocercus Bobr. Compt. Rend. Soc. Biol. Paris. T. LXI. 1905.

—— A propos de l'ovogénèse de Saccocirrus papillocercus Bobr. Ibid. T. LXII. 1907.

GOLDSCHMIDT, R. Über das Verhalten des Chromatins bei der Eireifung und Befruchtung des Dicrocoelium lanceatum Stil. et Hass. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.

HEMPELMANN, F. Eibildung, Eireifung und Befruchtung bei Saccocirrus. Zool. Anzeig. Bd. XXX. 1906.

—— Die Geschlechtsorgane und -zellen von Saccocirrus. Zoologica. Hft. 67. 1912.

HOFSTEN, N. VON. Studien über Turbellarien aus dem Berner Oberland. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXV. 1907.

—— Über frühzeitige Besamung der Eizellen bei Otomesostoma auditivum. Zool. Anzeiger. Bd. XXXIV. 1909.

—— Noch ein Wort über frühzeitige Besamung der Eizellen bei Otomesostoma auditivum. Ebd. Bd. XXXVII. 1911.

KEMNITZ, G. A. v. Eibildung, Eireifung, Samenreifung und Befruchtung von Brachycoelium salamandrae. Arch. f. Zellforsch. Bd. X. 1913.

MARTIN, C. H. Notes on some Turbellaria from Scottish Lochs. Proc. Roy. Soc. Edinburgh. Vol. XXVIII. Part 1. 1907.

MEVES, FR. Über die Beteiligung der Plastochondrien an der Befruchtung des Eies von Ascaris megalocephala. Arch. mikr. Anatomie. Bd. LXXVI. 1911.

SCHELLENBERG, E. Ooogenese, Eireifung und Befruchtung von Fasciola hepatica L. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1911.

SHEARER, CR. The Problem of Sex Determination in Dinophilus gyrociliatus. Journ. Mar. Biol. Ass. I. 9. 1911.

—— The Problem of Sex Determination in Dinophilus gyrociliatus. Part I. The Sexual cycle. Quart. Journ. Micr. Sc. Vol. LVII. 1912.

WASSERMANN, FR. Die Ovogenese des Zoogonus mirus Lss. Arch. mikrosk. Anat. Abt. II. Bd. LXXXIII. 1913.

WITSCHI, A. Über das Eindringen des Schwanzfadens bei der Befruchtung von Seeigeleiern. Biolog. Zentralblatt. Bd. XXXI. 1911.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel XXX.

Fig. 1—7. Junge Ovocyten mit dem Spermienkopf im Plasma.

Fig. 8—10. Heranwachsende Ovocyten mit Spermakopf und Schwanz (8 und 10 in der Aufsicht).

Fig. 11—13. Ebenso. Das Spermium einseitig an die Peripherie verlagert, durch zufällige Schleifenbildungen Knospen veranlassend (KOLTZOFFsches Prinzip!). Fig. 12 Anschnitt.

Fig. 14. Spermaschwanz intensiv färbbar. Beginn der Auflösung.

Fig. 15. Oberflächenbild auf die Tropfen, die als Derivat des Schwanzes aufzufassen sind.

Fig. 16. Nicht zur Besamung gelangtes Spermium. Kopf noch intakt, Schwanz zu einem Tropfen zusammengeflossen.

Fig. 17—19. Ovocyten mit den peripheren Tropfen; um den Kern Dotterbildung.

Fig. 20—23. Weiteres Wachstum des Eies. Die peripheren Tropfen geschwunden; Dotterbildung schreitet fort; Spermakopf unverändert im Plasma.

Fig. 24—34. Histogenese des Spermiums.

Fig. 24. Kern und Mitochondrienkörnchen.

Fig. 25. Im Mitochondrienhaufen treten drei kleine Kugeln auf.

Fig. 26—28. Die Kugeln wachsen. Auftreten des Schwanzfadens.

Fig. 29 u. 30. Abflachung des Kopfes, Beginn der Streckung der Mitochondrienkugeln.

Fig. 31—34. Die drei Mitochondrienkugeln strecken sich und umhüllen den Schwanz. Streckung des Kopfes.

Tafel XXXI.

Fig. 35. Ovocytenkern eben aufgelöst. Der Spermakopf in der Nähe der Tetraden kontrahiert.

Fig. 36. Erste Reifeteilung. Der Spermakopf noch mehr kontrahiert.

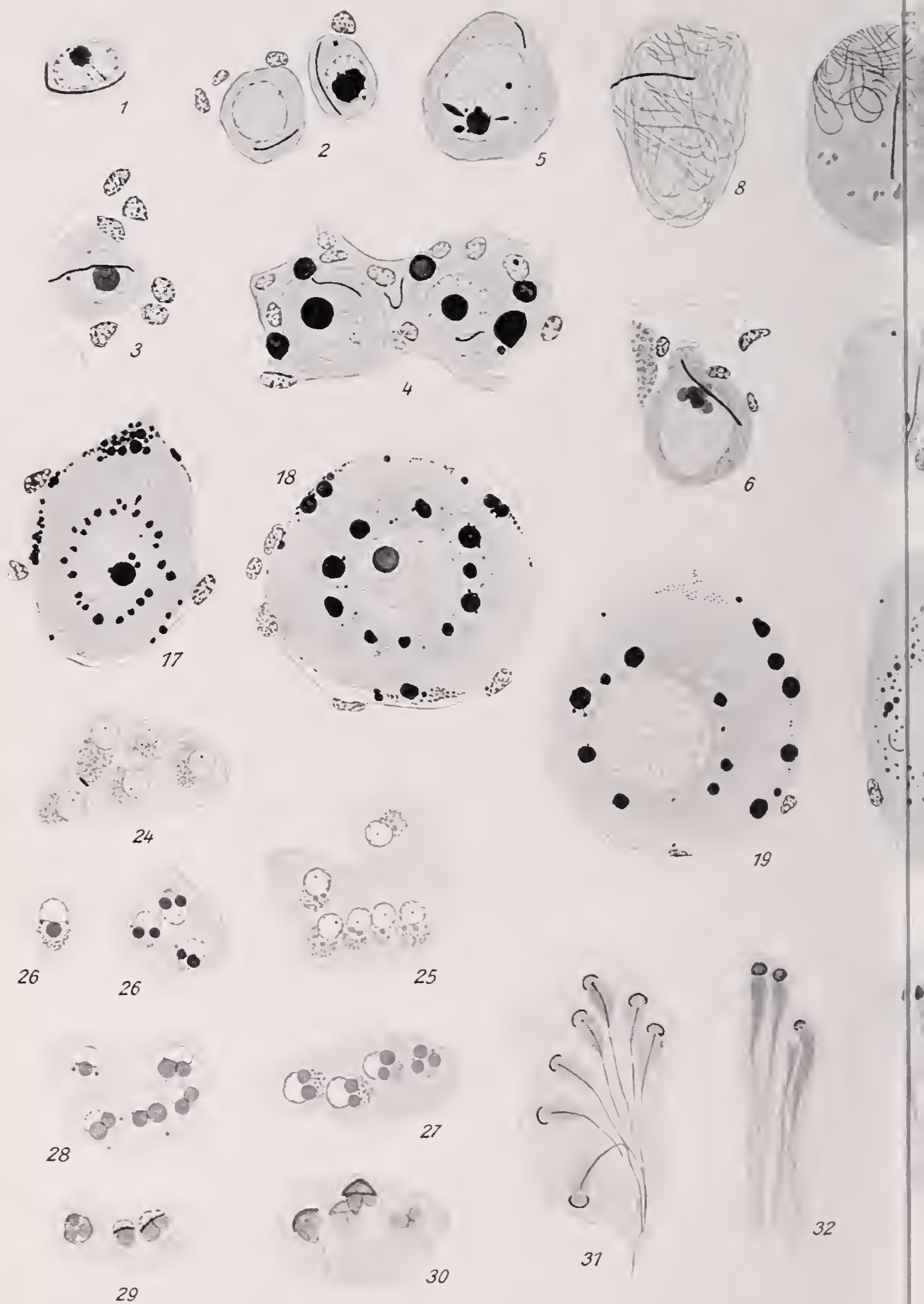
Fig. 37. Ende der ersten Reifeteilung. Spermakopf in Körnchen zerfallen.

Fig. 38. Ende der zweiten Reifeteilung. Spermakopf unverändert.

Fig. 39—41. Entwicklung der beiden Vorkerne.

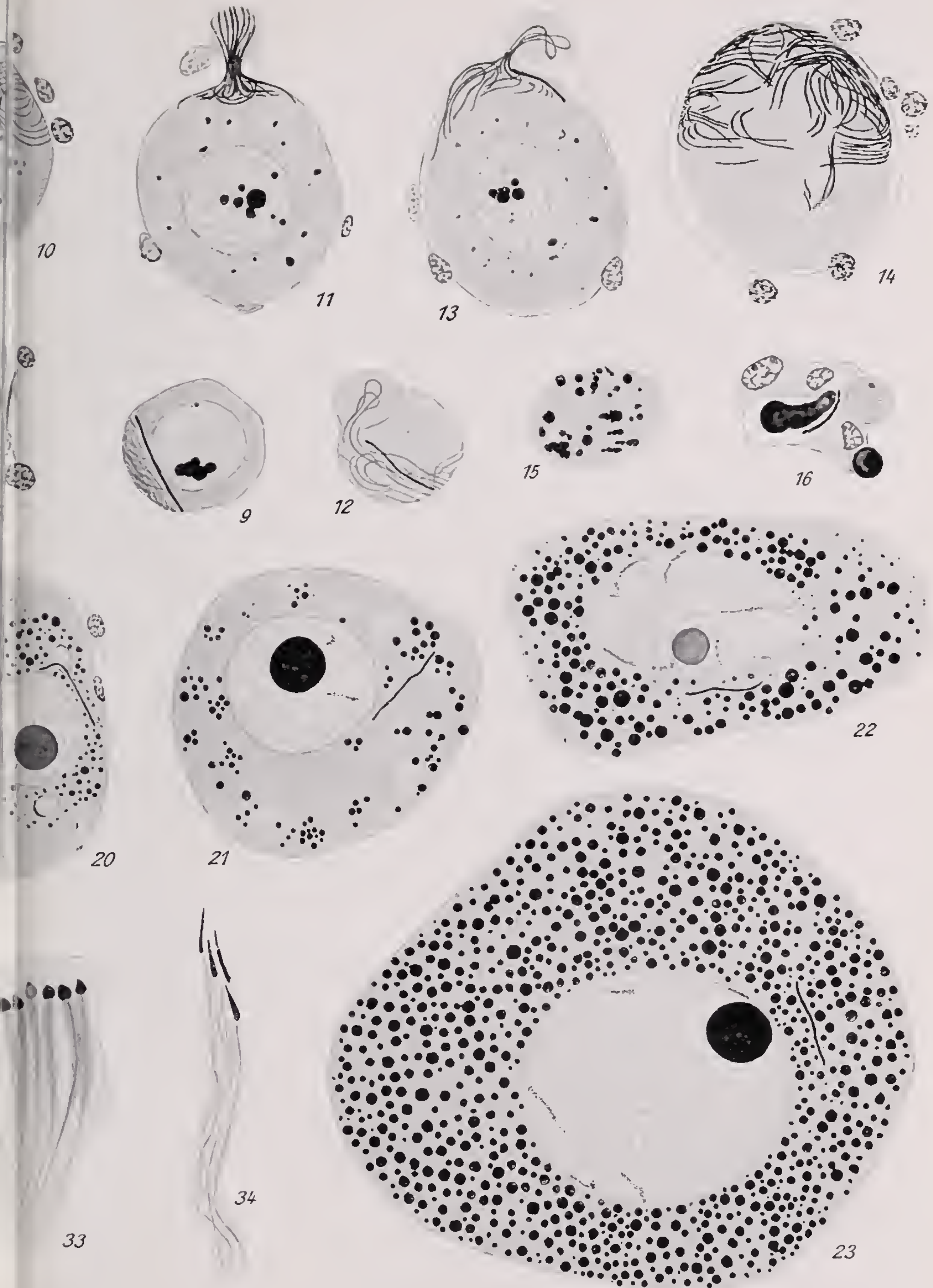
Fig. 42. Die Verschmelzung der beiden Vorkerne beendet.



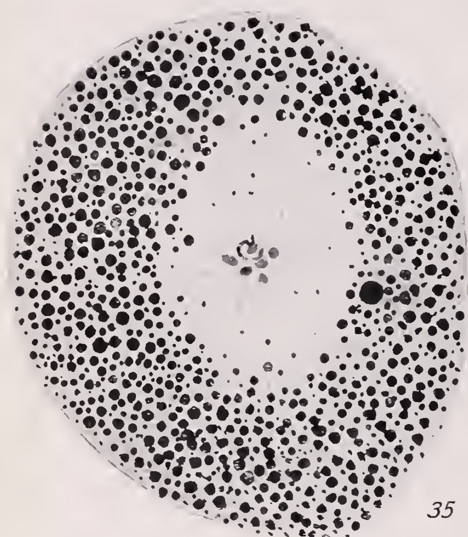


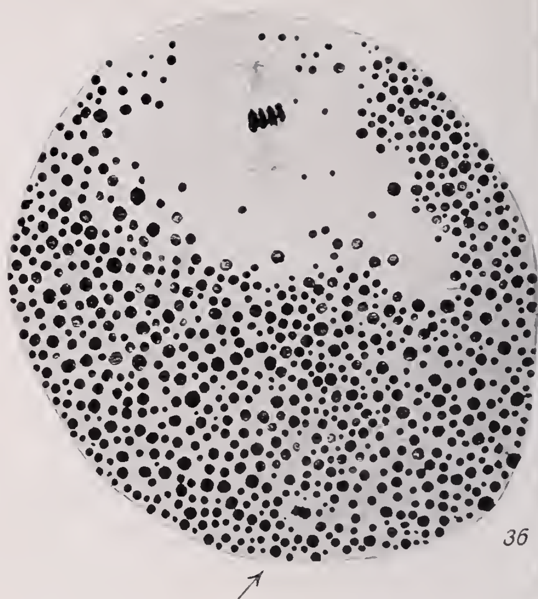
Buchner.

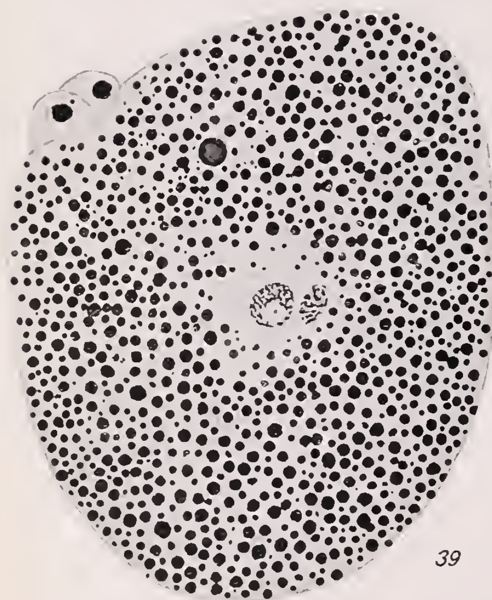
Verlag von Wilhelm En[gelmann]

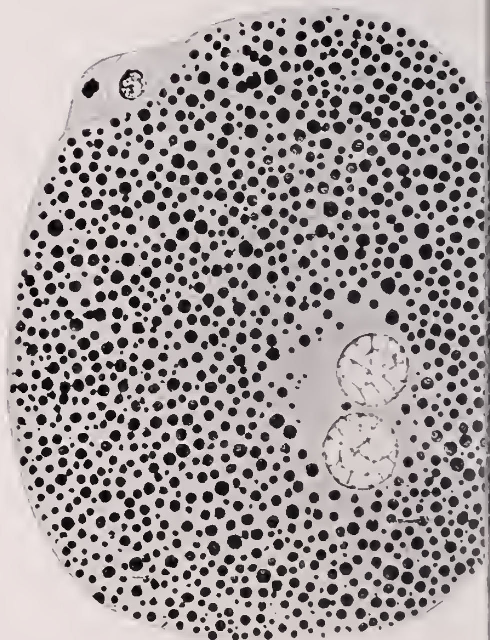


mann in Leipzig und Berlin.

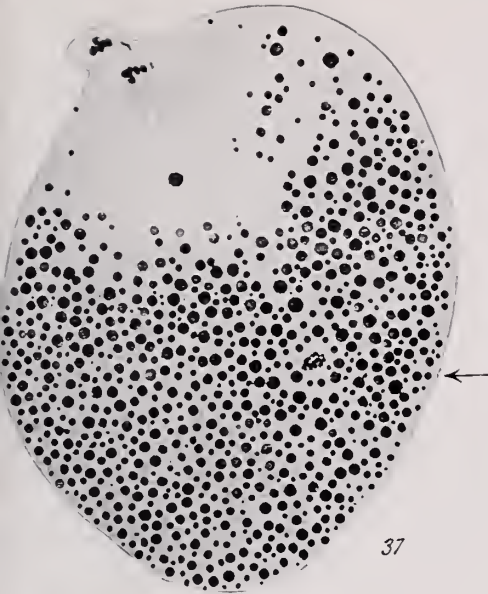


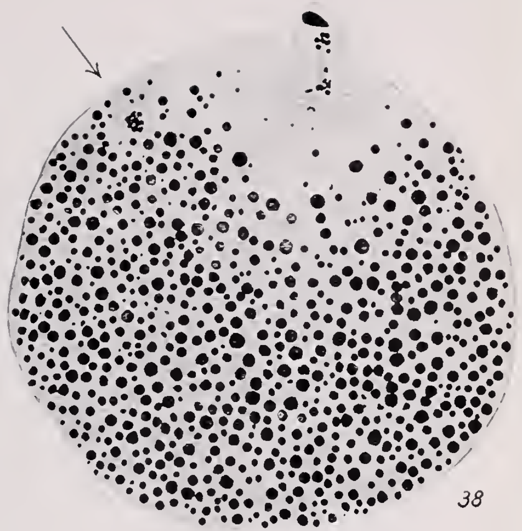


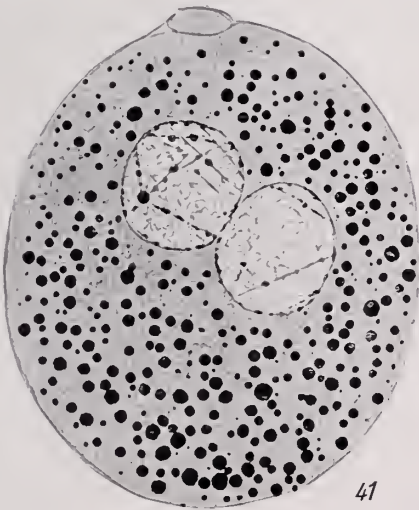


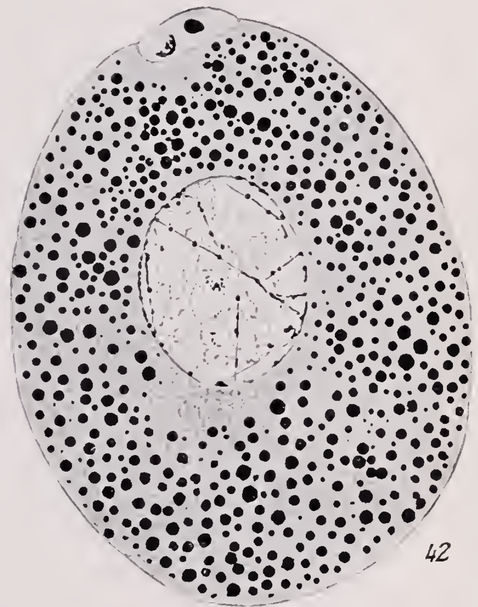


Verlag von Wilhelm Eng


37


38


41


42

Untersuchungen über die Eireifung, Befruchtung und Zellteilung von Gyrodactylus elegans v. Nordmann.

Von

Karl Gille.

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Mit Tafel XXXII—XXXIV.

Inhalt.

Einleitung.

Durch die Untersuchungen GOLDSCHMIDTS (1902) und HALKINS (1902) über die Eireifung von *Polystomum integerrimum* hatte es sich gezeigt, daß die bis dahin bei derartigen Studien gänzlich übergangenen Trematoden[1]) höchst interessante, von andern Tieren ziemlich abweichende Verhältnisse zeigen. Dem Studium dieser monogenetischen Form ließ dann GOLDSCHMIDT Arbeiten über digenetische Arten folgen, über *Zoogonus mirus* (1905/09) und *Dicrocoelium lanceatum* (1908), während sein Schüler SCHELLENBERG (1911) das bereits von HENNEGUY (1902) und SCHUBMANN (1905) untersuchte *Distomum hepaticum* einer Nachprüfung unterzog. Von *Gyrodactylus elegans*, einer dem *Polystomum* nah verwandten Form, waren durch JANICKI (1903) einige Stadien bekannt geworden; eine genauere Untersuchung nahm dann KATHARINER (1904) vor. Allein der Umstand, daß die Zahl der Tiere, welche in Reifung begriffene Eier und nicht bereits Embryonen enthalten, außerordentlich gering ist, und außerdem ein Tier immer nur ein einziges solches Ei enthält (es kommen auf 100—150 Tiere nur eins mit einem Ei), ist wohl daran schuld gewesen, daß seine Resultate lückenhaft und ungenau geblieben sind.

Ich unternahm es deshalb, die Reifevorgänge beim *Gyrodactylus* einer nochmaligen Untersuchung zu unterziehen, zumal bei der augenscheinlichen Ähnlichkeit mit den eigentümlichen Vorgängen bei *Polystomum* es möglich erschien, Widersprüche zwischen GOLDSCHMIDTS und HALKINS Angaben klar zu stellen. Doch bevor ich mit der Schilderung meiner Resultate beginne, möchte ich nicht versäumen, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat VON HERTWIG, in dessen Institut die Arbeit ausgeführt wurde, den herzlichsten Dank auszusprechen. In gleicher Weise bin ich auch Herrn Professor GOLDSCHMIDT, der die Anregung zu vorliegenden Untersuchungen gegeben hat, für seine reiche Unterstützung zu großem Danke verpflichtet. Ebenso sei Herrn Privatdozent Dr. BUCHNER für sein Interesse an der Arbeit bestens gedankt.

Material und Methoden.

Gyrodactylus ist insofern ein günstiges Objekt, als man zu jeder Jahreszeit Tiere, welche Eier im gewünschten Stadium enthalten, antreffen kann. Freilich macht der schon von KATHARINER unangenehm

[1]) Die älteren Arbeiten von ZELLER über *Polystomum* (1872) und WAGNER (1860) über *Gyrodactylus* haben heutzutage eigentlich nur noch historisches Interesse, da diesen alten Autoren moderne Hilfsmittel noch nicht zu Gebote standen.

empfundene Übelstand der relativen Seltenheit solcher Tiere die Untersuchung mühselig und zeitraubend. Ich erhielt den *Gyrodactylus* von Goldfischen, deren Haut von diesem Parasiten oft in riesiger Menge bedeckt ist. Stets sind die Fische dann auch mit zwei Infusorien, *Cyclochaeta* und *Chilodon*, infiziert. Von allen gebräuchlichen Fixierungsflüssigkeiten erwies sich FLEMMINGS Gemisch als das geeignetste, wenngleich auch hierin die Tiere keineswegs sämtlich gleich gut fixiert waren. Nach Auswaschen mit Brunnenwasser wurden die Würmer dann durch aufsteigenden Alkohol in Cedernholzöl übergeführt und hierin unter dem Mikroskop die gewünschten Stadien ausgesucht und in kleinen Mengen, etwa 4—8 Stück auf einmal, in Paraffin eingebettet. Zur Untersuchung wurden nur Schnitte von 5 μ Dicke verwandt. Totalpräparate wurden zwar auch versucht, aber keine der Carmin- und Hämatoxylinfarben gab brauchbare Bilder, da die starke Färbbarkeit des Plasmas alle übrigen Strukturen verdeckt[1]). Die Schnitte wurden mit Eisenhämatoxylin gefärbt; eine Nachfärbung mit Eosin machte besonders die achromatischen Strukturen deutlicher.

I. Vor den Reifeteilungen.

1. Unreifes Ei.

Von einer Untersuchung der Ovogenese bei *Gyrodactylus* nahm ich Abstand, da hierfür dieses Objekt der Kleinheit der Elemente wegen nicht geeignet zu sein scheint. Ovogonienteilungen, Synapsis usw. konnte ich überhaupt niemals mit Sicherheit erkennen. Ich beginne deshalb meine Schilderung mit dem bereits fertigen unreifen Ei. Von seinem Aussehen geben schon VON JANICKI und KATHARINER eine im wesentlichen richtige Darstellung. Das große im Ootyp liegende Ei ist aus einer kleinen Oocyte durch Aufnahme zahlreicher abortiver Eizellen als Nährzellen entstanden. Nicht selten verschmelzen erst eine Anzahl Ovocyten unter sich zu einer größeren Nährzelle, die dann vom Ei aufgenommen wird (Fig. 1). Da das Ei keine Schale besitzt, nimmt es, so lang es im Ootyp liegt, ganz dessen ovale Form an. Auch das von einer starken Membran begrenzte Keimbläschen ist von derselben Gestalt. Es wird erfüllt von

---

[1]) JANICKI hat allerdings auch Totalpräparate verwandt und sagt sogar von ihnen, daß sie »dank dem hohen Grad der Durchsichtigkeit des Objektes relativ sehr viel bei geringerer Mühe erkennen lassen«. Viel hat er freilich nicht sehen können. Auch KATHARINER benutzte zumeist Totalpräparate, hebt aber »die starke Färbbarkeit des Dotters mit den üblichen Kernfärbemitteln« als »erschwerenden Umstand«, den er »nur durch intensive künstliche Beleuchtung zum Teil überwinden konnte«, besonders hervor.

einem sehr feinfädigen, regelmäßigen Kernnetz (Fig. 8). In ihm liegt meist etwas excentrisch gegen den einen Pol zu ein ziemlich großer, ebenfalls elliptischer, sich tiefschwarz färbender Nucleolus (Fig. 12). Seine Lage ist insofern von Interesse, als fast ausschließlich in der Nähe dieses Poles die Nährzellen vom Ei aufgenommen werden. Sie wird noch weiter verständlich durch einen eigenartigen Vorgang, der sich beim fast ausgewachsenen Ei am Kern vollzieht. War das Keimbläschen bis dahin regelrecht elliptisch gestaltet, so treibt es jetzt pseudopodienartige Fortsätze ins Plasma hinein (Fig. 1—3). Schon Janicki beobachtete dies, und Kathariner bestätigte es. Jedoch geben beide keine Erklärung dafür. Diese fingerförmigen Fortsätze finden sich nun keineswegs an jeder Stelle der Kernmembran, sondern immer nur an dem Längspole, in dessen Bereiche die Aufnahme der Nährzellen stattfindet. In den Ausläufern findet man häufig ein paar kleinere, vom Nucleolus abgetrennte Stücke. Offenbar sichert sich der Kern auf diese Weise eine genügende Ernährung, wenn gegen Ende der Wachstumsperiode ein Mißverhältnis zwischen ihm und dem Plasma zu seinen Ungunsten einzutreten droht. Ähnliches wurde schon vor längerer Zeit von Weisman beobachtet und in gleichem Sinne gedeutet. Sodann vor allem von Korschelt bei *Dytiscus*, wo die Fortsätze nur gegen das Nährfach gerichtet sind, aus dem das Ei seine Nahrung bezieht; besonders ausgeprägt findet sich diese Erscheinung nach van Bambecke bei *Pholcus phalangoides*; hier erstrecken sich diese Ausläufer gegen eine dichtere Ansammlung von Fettkörnchen.

2. Ausbildung der Centrosomen für die erste Reifespindel.

Schon am unreifen Ei sehen wir an jedem der Längspole einen schwarzen runden Körper im Plasma liegen (Fig. 1 und 4: nur einer auf dem Schnitt getroffen. Fig. 2: beide). Er ist nicht homogen gefärbt, sondern es hat den Anschein, als setzte er sich aus zahlreichen schwarzen Körnchen zusammen, die viele winzige Stellen frei und dadurch hell erscheinen lassen. Obwohl diese Gebilde sehr weit von der Kernmembran entfernt liegen und auch nicht die geringste Strahlung an ihnen wahrzunehmen ist, so läßt doch die Lage an entgegengesetzten Polen in ihnen Centrosomen vermuten. Daß wir es aber tatsächlich mit solchen zu tun haben, beweist ein eigenartiger Umbildungsprozeß, welchen man Schritt für Schritt verfolgen kann. Je näher nämlich das Ei der Reifephase kommt, desto mehr schwindet von der Mitte ausgehend, die schwarze Färbung des Körpers (Fig. 2; das obere). Bald bleibt nur noch eine dunkle Rindenzone, die einen hellen Fleck umschließt, in dessen Innerem

schon jetzt zuweilen ein kleines Pünktchen, das Centriol, sichtbar wird (Fig. 3; das obere). Zugleich bemerken wir, daß auch eine Formveränderung stattgefunden hat: Aus der runden Gestalt ist eine elliptische geworden.

Die Rindenschicht wird nun immer heller und homogener und wächst dabei beträchtlich heran. Wie uns Fig. 3 zeigt, geht die Umwandlung keineswegs gleichzeitig an beiden Polen vor sich; immer ist dasjenige Centrosom, welches an der gelappten Seite des Kernes liegt, in der Umformung beträchtlich voraus. Erst nachdem das Centroplasma (die Rindenschicht des Centrosoms) völlig homogen geworden ist, tritt eine Strahlung auf (Fig. 6). Diese wird immer kräftiger, je mehr das Centrosom wächst, denn seine volle Größe erreicht es erst kurz vor der Ausbildung der ersten Reifespindel (Fig. 7). Das fertige Centrosom (Fig. 7) hat also folgenden Bau: Die breite homogene, mit Eosin sich stark färbende Rindenschicht, das Centroplasma (Centrosom Boveris) umschließt einen kleinen, etwas excentrisch liegenden ungefärbten Hof, in dessen Mitte das schwarze Centriol liegt. Vom Centrosom geht eine kräftige Strahlung aus, jedoch gehen die Strahlen nicht durch die homogene Zone, sondern enden an ihrer Oberfläche. Das Centroplasma ist außerordentlich scharf gegen das Zellplasma abgesetzt, so daß es mitunter den Anschein hat, als würde es von einer Membran umschlossen.

Der geschilderte Umwandlungsprozeß der Centrosomen geht ganz gesetzmäßig vor sich: eine Täuschung, durch einen ungleichen Grad der Extraktion hervorgerufen, kann nicht vorliegen, zumal da der gleiche Vorgang in allen Furchungszellen beobachtet werden kann, worauf ich weiter unten noch zu sprechen kommen werde.

Leider vermag ich über die Herkunft des Centrosoms im unreifen Ei nichts Bestimmtes anzugeben. Sicherlich nehmen die im ausgewachsenen Ei stets vorhandenen zwei Centrosomen aus einem ihren Ursprung in gleicher Weise, wie es in den Furchungszellen während der Kernruhe der Fall ist, wovon später noch die Rede sein wird. Sein färberisches Verhalten weist vielleicht darauf hin, daß es aus dem Kern seinen Ursprung genommen haben könnte; es nachzuweisen gelang mir jedoch nicht. In ganz jungen Ovocyten ist es sicher nicht zu sehen. In etwas größeren Eizellen ist sein Vorhandensein schwer zu entscheiden, da irgendein schwarzer Körper im Plasma ebensogut Rest eines Nährzellenkernes sein kann. Erst wenn es sich geteilt hat und die Teilstücke etwas herangewachsen sind, läßt es sich durch seine Lage und Größe sicher erkennen.

Aus seiner Färbung auf die Herkunft aus dem Kern zu schließen, ist wohl deshalb nicht ganz unberechtigt, da ja bekanntlich R. Hert-

wig (1898) am *Actinosphaerium* bei den sogenannten Reduktionsteilungen der Cysten die Differenzierung des Centrosoms aus chromatischen Massen des Kernnetzes Schritt für Schritt verfolgen konnte. Das spongiös gebaute, mit Borax-Carmin sich färbende Centrosom macht dann einen ähnlichen Umbildungsprozeß durch.

Wie Kerne sich färbende Centrosomen beobachteten ferner noch Francotte (1898) bei Polycladen, Schockaert bei *Thysanozoon* (1905). Die Entfärbung beginnt hier allerdings erst mit der Metakinese, geht centripetal vor sich, und soll zu einem völligen Schwund des Centrosoms führen, während bei unserm Objekt die Entfärbung in den Prophasen und centrifugal verläuft und das »Aktivwerden« kennzeichnet. Auch Goldschmidt (1905) berichtet bei *Zoogonus* ähnliches. Hier behalten freilich die stabförmigen Centrosomen des unreifen Eies während der ersten Reifeteilung ihr Aussehen bei, um erst bei der zweiten Reifeteilung in ein kugeliges farbloses Centrosom mit Centriol überzugehen, so daß die Centrosomengestalt schon ein sicheres Merkmal zur Unterscheidung der beiden Reifeteilungen wird.

Aber noch eine Eigentümlichkeit der Centrosomen des unreifen Eies haben wir bisher nicht erwähnt; sie sind nämlich schon von Anfang an von ungleicher Größe. Je größer die Centrosomen werden, desto auffälliger wird der Unterschied. Von den völlig ausgebildeten Centrosomen der ersten Reifespindel ist das eine fast doppelt so groß als das andre, und zwar liegt das größere stets am Eipol, während das kleinere den Richtungspol einnimmt (Fig. 9, 10 und 11). Daß sie anfangs von ungleicher Größe sind, kann allerdings nicht weiter wunder nehmen, da, wie ich schon oben erwähnte, die Umwandlung nicht gleichzeitig vor sich geht. Später aber wächst das eine offenbar viel mehr, so daß sich schließlich der beträchtliche Größenunterschied ergibt. Vielleicht läßt sich das ungleiche Wachstum damit in Zusammenhang bringen, daß das größere Centrosom an dem Pole liegt, in dessen Bereiche die Nährzellen aufgenommen werden, somit also günstigere Wachstumsbedingungen hat.

Ungleiche Größe der Centrosomen der Reifungsteilungen beobachtete Goldschmidt zum ersten Male bei *Zoogonus*. Auch in allen Furchungszellen, die sich ungleich teilen, konnte er den Centrosomenunterschied feststellen, wie schon früher bei *Polystomum* (1902); hier allerdings nicht bei den Reifeteilungen, woran vielleicht auch nur ein ungünstiges Material schuld war. Halkin (1902) erhielt von den achromatischen Strukturen der Reifeteilungen bessere Bilder als Goldschmidt. Er erwähnt zwar nichts von einem Größenunterschied; da er ihn jedoch in den Furchungszellen ebenfalls übersehen hat, könnte er ihm

auch hier nur entgangen sein. Für Mesostomum hat, wie schon GOLDSCHMIDT erwähnt, BRESSLAU gleiches angegeben. GOLDSCHMIDTS Folgerung, »daß die Größe der Centrosomen bei diesen Objekten der Größe der aus der Teilung entstehenden Zellen proportional ist«, kann ich freilich nur teilweise beipflichten; denn ich muß erwähnen, daß ich bei Furchungszellen zu keinem sicheren Resultate kommen konnte. Manchmal schien ein Unterschied zu bestehen, manchmal aber auch nicht. An dieser Unsicherheit ist vor allem der Umstand schuld, daß die Centrosomen der Furchungszellen kleiner sind und außerdem nur selten schärfer hervortreten. KATHARINER schildert sie nur als helle Flecke, bei Eosinfärbung treten sie jedoch als distinct gefärbte Körper zuweilen deutlicher hervor, meist ist allerdings dann nur eins ganz deutlich.

Da bei ihrer Lage an den Längspolen des unreifen Eies eins und zwar stets das größere an der Stelle im Plasma liegt, wo der Kern pseudopodienartige Fortsätze treibt, so liegt gewiß die Vermutung nahe, daß auch das Umgekehrte der Fall sein könnte, nämlich, daß unter dem Einfluß des Centrosoms das Plasma mit diesen fingerförmigen Fortsätzen in den Kern hineindringt. Obwohl es häufig so aussieht, als sei dies der Fall, so glaube ich doch nicht den Vorgang so deuten zu dürfen. Denn einmal sind diese Bildungen am Kern schon vorhanden, wenn das Centrosom noch schwarz und ohne Strahlung, also noch nicht aktiv ist, und dann erreichen sie sogar während dieser Zeit den Höhepunkt ihrer Ausbildung, um hernach wieder zurückzuweichen. Sind die Centrosomen jedoch aktiv geworden, so wird unter dem Einfluß der Strahlung das Plasma in breiter Zone in stumpfen Vorwölbungen in das Keimbläschen hineingedrückt (Fig. 7); dadurch findet die Auflösung der Kernmembran statt, und das Plasma strömt in den Kern hinein. Diese Erscheinung tritt an beiden Polen auf, während die pseudopodienartigen Fortsätze des Kernes, wie schon erwähnt, immer nur an dem einen Pole auftreten, in dessen Bereiche die Nährzellen aufgenommen werden. Da zudem in Furchungszellen etwas Derartiges nicht wieder zu beobachten ist, so ist wohl die schon oben ausgesprochene Vermutung, daß das Keimbläschen zu seiner besseren Ernährung amöboide Bewegungen ausführt, ganz gerechtfertigt.

3. Entstehung der Chromosomen der ersten Reifespindel.

Wenden wir uns nunmehr der so wichtigen und vielumstrittenen Frage nach der Entstehung der Chromosomen der ersten Reifespindel zu. Bei *Gyrodactylus* besitzt das Keimbläschen des sich zur Reifeteilung anschickenden Eies ein völlig achromatisches Kernnetz und einen tief

geschwärzten großen Nucleolus (Fig. 1 u. 2). Diese Beobachtung stimmt mit der Kathariners bei *Gyrodactylus* und Goldschmidts bei *Polystomum* überein. Janicki läßt dagegen bei *Gyrodactylus* den Kernraum von feinen chromatischen Körnchen erfüllt sein, aus denen seiner Vermutung nach die Chromosomen sich bilden. Doch hat er keine positiven Beobachtungen hierüber machen können. Mit den Angaben Goldschmidts stehen die Halkins im Widerspruch. Dieser Forscher läßt den Nucleolus völlig achromatisch sein, zeichnet aber im Kernnetz allerlei chromatische Körperchen. Er sagt nun selbst schon: «L'aspect de cette dernière (des Kernnetzes) est, du reste, assez peu constant, et le mode de coloration ainsi que le degré de coloration ont certainement une influence sur le nombre des éléments du noyau qui se colorent.» Sicherlich ist auch sein Material nicht sonderlich gut fixiert gewesen; denn von den Chromosomen der Reifungsteilungen gibt er im Vergleich mit Goldschmidt ganz ungenügende Bilder. So glaube ich, daß das, was sich bei ihm »chromatisch« gefärbt hat, nur verklumpte Teile des Kernnetzes sind, die bei schwachem Differenzieren die Farbe länger halten (bei Eisenhämatoxylinfärbung). Die Ausbildung wirklicher Chromosomen zeigt er dagegen auf keinem einzigen Bilde. Bevor ich nun auf die übrige Literatur eingehe, möchte ich zunächst die eignen Befunde schildern. In dem anfangs tiefschwarz gefärbten Nucleolus treten Vacuolen auf, und seine Färbbarkeit nimmt schnell ab, Vorgänge, die ja ziemlich allgemein bei der Auflösung der Nucleolen beobachtet wurden. Die homogene Färbung ist jetzt in eine mehr körnige übergegangen. Auf günstigen Bildern (Fig. 4) erkennt man, daß die Chromatinkörner nicht regellos im Nucleolus liegen, sondern zu einem wirr durcheinandergeschlungenen langen Faden aufgereiht sind, während in der Plastingrundmasse einige Vacuolen vorhanden sind. Ein späteres Stadium stellt wohl Fig. 5 dar. Hier sind im Nucleolus Bildungen aufgetreten, welche stark an die Lampenbürstenchromosomen erinnern, wie sie bei Amphibien und andern Tieren gefunden wurden; bei diesen sind sie freilich im Kernnetz gelegen, hier jedoch im Nucleolus enthalten. Etwas Ähnliches beobachtete Carnoy bei Amphibien. Entweder traten innerhalb der Nucleolen chromosomartige Bildungen auf, die durch Bersten der Nucleolenwand ins Kernnetz gelangten und hier zu den endgültigen Chromosomen wurden, oder es bildeten sich in den Nucleolen Chromatinkörnchen, die erst während ihres Austrittes sich im Kernnetz zu gefiederten Chromosomen anordneten. Carnoy vertritt also auch die Anschauung, daß aus dem Nucleolus die Chromosomen hervorgehen. Daß diese chromosomenähnlichen Figuren durch Bersten des Nucleolus frei werden, habe ich

freilich nie gesehen. Bei noch weiter fortschreitender Abnahme der Basizität des Nucleolus scheinen nun diese Gebilde in sehr feinkörnige Fäden überzugehen. Auf Fig. 6 sehen wir ein paar solcher Fäden innerhalb des schon ganz farblosen Nucleolus liegen; der eine ragt zur Hälfte ins Kernnetz hinaus; zwischen zwei Zipfeln des Nucleolus liegen zwei ebensolche Fäden bereits frei im Kernnetz, in welchem in einem andern (nicht gezeichneten) Schnitt noch ein paar Chromosomen gelegen sind. Zugleich sehen wir als Zeichen, daß das Ei der Reifephase näher gerückt ist, daß das Centrosom farblos geworden ist, und die Strahlung begonnen hat. Fig. 7 zeigt ein noch weiter vorgeschrittenes Stadium. Die Strahlung ist außerordentlich kräftig. Im Kernnetz liegen fast fertige Chromosomen, die sich stärker färben, und deren körnige Zusammensetzung durch eine stattgefundene Kontraktion nicht mehr so deutlich ist. Aus dem schon ganz farblosen und nur noch ein wenig vacuolisierten Nucleolus kommt gerade das letzte Chromosom heraus (Fig. 7 *a*). Es ist ein noch deutlich körnig zusammengesetzter, zopfartig aufgewickelter Doppelfaden. Er liegt innerhalb einer kleinen Schrumpfungsvacuole im Nucleolus. Über seine Chromosomennatur kann kein Zweifel bestehen, wenn man ihn mit den übrigen schon im Kernnetz liegenden Chromosomen vergleicht. Daß er wirklich innerhalb des Nucleolus gelegen ist und nicht etwa nur parallel zu seiner Oberfläche über oder unter ihm, wird dadurch erwiesen, daß er durch die ganze Dicke des Nucleolus hindurchgeht, wie man sich durch Drehen der Mikrometerschraube überzeugen kann. Auf Fig. 7 ist der Nucleolus nur skizziert; zur besseren Übersicht ist er auf Fig. 7*a* nochmals mit seinem Chromosom gezeichnet. Mit seinem Ende ragt dasselbe frei über die Oberfläche des Kernkörperchens empor. Auf welche Weise die Chromosomen aus dem Nucleolus frei werden, habe ich nicht mit Sicherheit ermitteln können. Auf Fig. 6 und Fig. 7*a* sehen wir sie gerade im Begriff, den Nucleolus zu verlassen, vielleicht aktiv, vielleicht aber auch passiv durch Einfluß des Centrosoms und seiner Strahlung.

In ähnlicher Weise entstehen in Furchungszellen die Chromosomen aus nucleolusartigen Gebilden, den Karyomeriten, wovon später noch die Rede sein wird.

Die Frage, ob zwischen Chromosomen und Nucleolen Beziehungen bestehen, spielt in der Literatur eine große Rolle. Die nucleoläre Entstehung der Chromosomen wurde angegeben vor allem von Wilson (1901), Hartmann (1902), Böhmig (1908), Goldschmidt (1902) und Günther (1904), früher außerdem von Carnoy (s. oben) und Fick (1899). Ihre Angaben erfuhren hauptsächlich durch Vejdovsky (1907), Buchner

(1911) und Jörgensen (1912) eine Kritik. Sie sind alle drei übereinstimmend der schon von den älteren Autoren, Rückert (1892) und Born (1894) vertretenen Ansicht, daß die Chromosomen jederzeit im Kernnetz enthalten sind, daß sie also niemals aus dem Nucleolus hervorgehen, noch überhaupt sich jemals Nucleolensubstanz irgendwie an ihrer Bildung beteilige. Letzteres wurde vor allem von R. Hertwig (1898) bei *Actinosphaerium* beschrieben; auch Böhmig (1898) sieht in den Nucleolen Reservesubstanzen für die Chromosomen.

Für die Entstehung der Chromosomen eine so strenge Regel aufzustellen, wie es die oben genannten Forscher tun, scheint mir nach meinen Resultaten an *Gyrodactylus* nicht berechtigt zu sein. Vergleicht man z. B. meine Fig. 4 mit Vejdovskys Fig. 44 auf Taf. II seiner großen Monographie (1907), so erblickt man in beiden Bildern einen wirr durcheinandergeschlungenen, aus einzelnen kleinen schwarzen Kügelchen zusammengesetzten chromatischen Faden, mit dem einzigen Unterschiede, daß er bei Vejdovskys Objekt im Kernnetze, bei *Gyrodactylus* dagegen im Nucleolus gelegen ist. Auch die mit feinen Ausläufern versehenen Lampenbürstenchromosomen finden sich ebenso im Nucleolus, wie bei seinen Würmern im Kernnetz (Fig. 5). Buchner prüfte Hartmanns Objekt *Asterias* und es glückte ihm, dauernd während des ganzen Eiwachstums die Tetraden neben dem Nucleolus nachzuweisen. Auch bei *Polystomum*, das Goldschmidt untersucht hat, will er sie gesehen haben und er glaubt, daß nur zu langes Differenzieren sie zum Verschwinden gebracht habe. Ich glaube aber, daß man durchaus nicht alles, was bei Eisenhämatoxylinfärbung nach kurzem Differenzieren noch schwarz bleibt, als Chromatin ansprechen darf. Halkins *Polystomum*-Bilder sind sicherlich, wie ich schon oben erwähnt habe, nach solchen ungenügend differenzierten Präparaten entworfen worden. Jedenfalls hat man ein noch weit größeres Recht, das als Chromatin bzw. als Chromosomen anzusehen, was auch nach starkem Differenzieren die Farbe hält; und das ist bei meinen *Gyrodactylus*-Präparaten der Fall.

In neuester Zeit hat sich auch Jörgensen (1913), der leider zu früh der Wissenschaft entrissen wurde, in seinen letzten Arbeiten sehr scharf gegen die Möglichkeit einer nucleolären Entstehung der Chromosomen ausgesprochen. Wie vor ihm Vejdovsky und andere gezeigt hatten, bewies er aufs deutlichste, daß erst gegen Ende der Wachstumsperiode die Chromosomen im unreifen Ei wie in der Mitose mittels Kernfarbe (Eisenhämatoxylin) nachgewiesen werden können, daß sie vorher (und in ruhenden Zellen) aber oxychromatisch sind, d. h. nur durch Plasmafarben sichtbar gemacht werden können. Ein umgekehrtes Verhalten

zeigen die Nucleolen: sie sind anfangs basichromatisch, nehmen also basische Kernfarben an, um später in Oxychromatin überzugehen. Dieses gesetzmäßige Verhalten hat er kurz das »Gesetz von der umgekehrten Reaktion« genannt. Seine Gültigkeit hat er außer durch färberische Methoden auch besonders überzeugend durch chemische Experimente, seine Verdauungsversuche mit Pepsinsalzsäure, bewiesen: Nucleinsäurekomponenten werden nicht verdaut, daher sind die basichromatischen Mitosechromosomen nicht verdaubar, wohl aber die oxychromatischen des wachsenden Eies; letztere enthalten also kein Chromatin. Von großer Wichtigkeit ist es auch, daß färberisch sich gleich verhaltende Nucleolen verschiedener Tierarten sich dennoch der Verdauung gegenüber verschieden resistent erwiesen.

Theoretisch steht man der Entstehung der Chromosomen aus Nucleolen besonders deswegen skeptisch gegenüber, weil dadurch der Individualitätstheorie der Chromosomen der Boden entzogen zu werden droht. Günther (1904) läßt daher die Chromosomen in den Nucleolus hineinwandern, um sie dann später wieder herauskommen zu lassen. Goldschmidt (1902) glaubt freilich, daß sie herauswachsen, daß mithin Nucleolensubstanz in Chromosomensubstanz übergeht. Das ist aber nach Jörgensen niemals der Fall. Er konnte beim Eiwachstum von *Melamphaës*, einem Tiefseefisch, Stadien feststellen, wo im Kern nur noch eine einzige Chromatinart, die oxychromatische Chromosomensubstanz, vorhanden ist, während die vorher vorhandene reich entwickelte basichromatische Nucleolensubstanz ganz geschwunden ist. Hier kann also unmöglich die Nucleolensubstanz direkt in die Chromosomen übergehen. Auch Vejdovsky bemerkt, daß während der Ausbildung der Chromosomen kein Abnehmen der Nucleolen an Größe oder Färbbarkeit stattfindet. Bei *Gyrodactylus* scheint nun der Fall dem Güntherschen ähnlich zu liegen: wenn die Chromosomen innerhalb des Nucleolus liegen, so können sie anfangs in dem stark tingierten basichromatischen Nucleolus nicht nachgewiesen werden. Erst später, wenn die Reaktionsumkehr eintritt, wenn die Nucleolen oxychromatisch, die Chromosomen dagegen basichromatisch werden, können sie innerhalb des Nucleolus wahrgenommen werden. Das chemische Verhalten der beiden Kernkomponenten ist wohl sicherlich das gleiche, wie es Jörgensen gefunden hat, nur die morphologische Lagerung beider Gebilde weicht bei *Gyrodactylus* (und auch bei *Polystomum*) von der bei den meisten übrigen Tieren konstatierten ab. Auf einigen meiner Bilder (Fig. 6 und 7*a*) sieht es freilich auch so aus, als ob die Chromosomen aus dem Nucleolus herauswüchsen, da sie zur Hälfte aus ihm hervorragen. Ich meine aber, daß dies nur Stadien auf

ihrer Wanderung ins Kernnetz darstellen, welche vermutlich durch die Centrosomen herbeigeführt wird. Jörgensen hat auch sehr schön bei *Melamphaës* gezeigt, daß man nicht jedes chromosomenähnliche Gebilde einfach für ein Chromosom ansehen darf. Die Oocyten dieses Tieres haben anfangs zahlreiche runde Nucleolen, die dann in chromosomenartige Ringe usw. übergehen. Daß sie jedoch keine Chromosomen darstellen, bewies er dadurch, daß er neben ihnen immer die oxychromatischen Chromosomen nachweisen konnte (Taf. VII, Fig. 125). Auf meiner Fig. 7 bzw. 7*a* kann es jedoch keinem Zweifel unterliegen, daß die im Kernnetz liegenden Chromosomen und die im oxychromatisch gewordenen Nucleolus enthaltenen Gebilde identisch sind. Übrigens stimmen die Angaben derer, die die Chromosomen beständig und nur im Kernnetz liegen lassen, auch nicht untereinander überein. Ein Teil (z. B. Vejdovsky, Jörgensen) betont ausdrücklich, daß die Chromosomen erst gegen Ende der Wachstumsperiode mittels Eisenhämatoxylin nachgewiesen werden können, vorher aber (nach der Synapsis) sich nur mit sauren Plasmafarben färben. Andre Autoren dagegen, so Buchner und Schellenberg, haben sie mit Eisenhämatoxylin jederzeit nachweisen können. Es bleibt also nichts andres übrig als anzunehmen, daß beides möglich ist. Goldschmidt beschreibt bei *Polystomum* vor Ausbildung der Chromosomen einen Zerfall des Nucleolus in mehrere Teile, sogenannte Karyomeriten und glaubt, daß aus jedem ein Chromosom hervorgeht. Es ist aber sicher, daß die diesbezüglichen Bilder (seine Fig. 4, 5, 8, 9, 10) Stadien nach den Reifeteilungen darstellen, welche die beiden Vorkerne enthalten, wie es Halkin angibt. Die in Fig. 4 und 8 eingezeichneten Gebilde sind daher nicht als Spermaköpfe zu deuten. Auch Kathariner hält Eier mit Karyomeriten für reife Eier, ebenso äußert sich Matthiessen (1904).

Während der Ausbildung der Chromosomen befindet sich das Ei meist noch im Ootyp, seltener bereits im Uterus, wo stets erst die Reifeteilungen stattfinden. Schon Wagner hat das Übertreten des Eies in den Uterus im Leben beobachtet. Meine Fig. 8 bestätigt im wesentlichen seine Beschreibung. Man sieht deutlich, wie das Ei durch die enge Papille hindurchgepreßt wird. Im Uterus geht es dann in die Kugelform über. Noch vor Auflösung des Keimbläschens dringt das Spermatozoon ein; doch will ich die Vorgänge der Befruchtung erst nach Schilderung der Reifeteilung darstellen, um die Übersichtlichkeit zu wahren.

II. Die Reifeteilungen.

1. Die erste Reifespindel.

Nach Ausbildung der Chromosomen wird nunmehr durch Vordringen der Strahlen des Centrosoms die Kernmembran aufgelöst. Das Plasma dringt in den Kernraum ein und vermischt sich mit den Resten des Nucleolus, der zuletzt eine ganz plasmaähnliche aufgelockerte Masse geworden ist und niemals schwarz mehr gefärbt ist. HALKIN bildet in seiner Fig. 9 einen schwarzen kugeligen Körper ab, welchen er als Rest des Nucleolus deutet. Ich halte dies aber für irgendein Kunstprodukt, wie überhaupt alle seine Bilder der chromatischen Teile der Reifeteilungen mehr oder weniger Artefakte darstellen, hervorgerufen durch ungenügende Fixierung. Auch ich machte die Erfahrung, daß das Chromatin der Reifeteilungen bei der Fixierung sehr leicht bröcklich zerfällt, eine unangenehme Eigenschaft, die die Zahl brauchbarer Bilder der an und für sich schon raren Stadien noch stark herabsetzt. Das Verhalten der ersten Reifespindel ist in mehrfacher Hinsicht auffällig. Was am meisten in die Augen springt, ist die Tatsache, daß sie sich durchs ganze Ei erstreckt, wie es auch KATHARINER und JANICKI angeben. Ein gleiches Verhalten zeigen die übrigen bereits untersuchten Trematoden. Auch bei andern niedrig stehenden Tieren kommt es vor: so beschreibt es BRESSLAU (1904) für *Mesostomum*, JÖRGENSEN bei *Nephelis* (1908) und *Piscicola* (1913). Ich stimme JÖRGENSEN bei, wenn er hierin ein primitives Verhalten ausgedrückt findet.

Nicht weniger auffällig ist der riesige Unterschied in der Größe der Centrosomen. Das am vegetativen Eipol liegende ist gut doppelt so groß als das am animalen Pol gelegene. Die Bedeutung dieser Erscheinung habe ich bereits weiter oben gewürdigt.

Im Plasma fällt eine sich wesentlich dunkler färbende Zone am vegetativen Pol auf. GOLDSCHMIDT und HALKIN beschreiben sie an beiden Polen. KATHARINER konnte sie jedoch auch nur am vegetativen Eipol finden. Vielleicht läßt sich diese Erscheinung darauf zurückführen, daß beim wachsenden Ei hier (am Pole des größeren Centrosoms) die Nährzellen aufgenommen werden, so daß ein größerer Dotterreichtum auf diese Weise bewirkt wurde. In den Furchungszellen hat sich dieser Unterschied dann wieder ausgeglichen.

Wenden wir uns nunmehr dem Verhalten der chromatischen Teile zu. Im vorigen Abschnitt haben wir bereits die Bildung der Chromosomen aus dem Nucleolus beschrieben und müssen wir jetzt noch etwas näher

auf ihre Gestalt eingehen. In Fig. 7, wo die Kernmembran und der Nucleolus noch erhalten sind, sehen wir Doppelstäbchen, die teils zopfartig zusammengewunden sind, teils sich auch ringförmig aneinandergelegt haben. Sie lassen noch mehr oder weniger deutlich ihre Zusammensetzung aus einzelnen Körnchen, den Chromomeren Eisens, erkennen. Wie diese Figuren in die Äquatorialplatte eingeordnet werden, habe ich nicht beobachtet. Die nächsten Bilder, Fig. 9—11, zeigen sie bereits im Äquator der Spindel. Da sie ziemlich klein sind und außerordentlich dicht beisammen liegen, erhielt ich nur wenig Bilder, bei denen ihre Form und Zahl sicher zu bestimmen ist. Sie sind noch wesentlich kürzer geworden als in den Prophasen und lassen eine Zusammensetzung aus Körnchen nicht mehr erkennen. Sie liegen der Länge nach in der Spindelachse und haben recht verschiedene Formen (Fig. 9*a* und 10*a* zeigen die Chromosomen von Fig. 9 und 10 bei stärkerer Vergrößerung). So finden sich lange, an den Enden und in der Mitte knopfförmig angeschwollene Stäbe. Es sind dies dieselben f-förmigen Gebilde, die bei Polycladen (Francotte) und von Vejdovsky (1907) bei verschiedenen Oligochäten beschrieben wurden. Ihre Entstehung hat Vejdovsky aufs genaueste verfolgen können, und es ist kein Zweifel, daß sie auch hier Dyaden darstellen, hervorgegangen durch die endweise Vereinigung der Doppelstäbchen in den Prophasen. Außer diesen f-Figuren finden sich dann noch lange, an beiden Enden hantelförmig angeschwollene Stäbe. Sie sind vermutlich ebenso entstanden, nur ist der Verschmelzungspunkt in der Mitte nicht mehr erkenntlich. Dann finden sich noch wesentlich kleinere, die sich mehr oder weniger deutlich als noch parallel nebeneinander liegende Doppelstäbchen erkennen lassen. Die Zahl dieser Doppelchromosomen oder Dyaden ist sechs, während die Normalzahl nach Feststellung in Furchungszellen und Spermatogonien zwölf beträgt. Kathariner und Janicki geben acht an, doch ist diese Zahl sicherlich falsch. Ob die Dyaden längsgespalten sind, wie Vejdovsky angibt, konnte ich bei der Kleinheit des Objektes nicht entscheiden. Dagegen finde ich ebenfalls beträchtliche Größenunterschiede; die Hälfte sind solche langen f- und hantelförmigen Figuren, während die übrigen drei wesentlich kleiner sind. Vejdovsky führt diese Größendifferenzen auf ein ungleiches Wachstum zurück; daß sie bei *Gyrodactylus* nicht so erklärt werden können, davon soll später in einem besonderen Kapitel gesprochen werden.

Anaphasen fehlen mir leider. Aber es ist wohl sicher, daß die verkoppelten Teile einer Dyade in der Mitte auseinanderreißen. Die im Ei zurückbleibenden Chromosomen, welche sich ebenso wie die des Richtungskörpers durch verschiedene Größe auszeichnen (Fig. 12, 13), rücken

während der Abstoßung des Richtungskörpers dicht an das große Centrosom heran, wie wenn sie einen Ruhekern bilden wollten. Am Centrosom ist während dieser Zeit auch keinerlei Strahlung zu bemerken. Von einer Teilung konnte ich nichts wahrnehmen. Kurze Zeit nach Abschnürung des Richtungskörpers setzt die Strahlung wieder ein und nunmehr rücken die Chromosomen wieder in die Mitte des Eies, um die Äquatorialplatte der zweiten Reifespindel zu bilden (Fig. 14—19).

2. Zweite Reifespindel.

Vejdovsky gibt für seine Objekte an, daß die Chromosomen der zweiten Reifespindel dieselben Dyadenfiguren darstellen wie bei der ersten. Ich finde jedoch nur sechs einfache stabförmige Chromosomen, aus denen durch Längsspaltung die Tochterplatten hervorgehen, wie Bilder der Anaphase zeigen (Fig. 13, 16, 17, 18). Ähnlich wie die erste, erstreckt sich die zweite Richtungsspindel ebenfalls fast durch das ganze Ei. Für *Polystomum* gibt Halkin gleiches an, während Goldschmidt gefunden hat, daß sie wesentlich kürzer als die erste ist. Außer durch die Gestalt der Chromosomen und das Vorhandensein des ersten Richtungskörpers unterscheidet sich die zweite Reifespindel von der ersten dadurch, daß sie asymmetrisch ist: sie besitzt nur am Eipol ein großes Centrosom. Ich glaube kaum, das andre übersehen zu haben, da nämlich im Gegensatz zu Goldschmidts Schilderung von *Polystomum* die Centrosomen bei *Gyrodactylus* während der Reifeteilungen sehr deutlich sind. Das Centriol mit seinem hellen Hof ist zwar seltener zu sehen, stets setzt sich aber das völlig homogene Centroplasma gegen das körnige Protoplasma der Zelle sehr scharf ab. Auch Schubmann (1905) hebt die Größe und Deutlichkeit der Centrosomen besonders hervor. Unbegreiflicherweise sind die Angaben Kathariners über die Reifeteilungen völlig ungenügend. Abgesehen davon, daß er eine falsche Chromosomenzahl angibt, (acht statt zwölf), läßt er in der ersten Reifeteilung die Normalzahl vorhanden sein, während die zweite die Reduktion herbeiführen soll. Aus meinen Präparaten geht jedoch unzweifelhaft hervor, daß bereits in der Äquatorialplatte der ersten Reifespindel die reduzierte Zahl vorhanden ist.

3. Die Richtungskörper.

Die Abschnürung des ersten Richtungskörpers konnte ich mehrfach beobachten (Fig. 12). Dieser Vorgang vollzieht sich in gleicher Weise wie beim *Polystomum*. Der weit über die Oberfläche emporgewölbte Polkörper hängt schließlich nur noch mittels eines dünnen Stieles mit dem Ei zusammen (Fig. 15). Wie auch Schellenberg von *Distomum*

hepaticum erwähnt, tritt das Centrosom des peripheren Spindelpoles mit in den Richtungskörper ein (Fig. 14—18). Durch dasselbe läßt sich mit Sicherheit der erste Polkörper während der zweiten Reifeteilung von andern ihm ähnlich aussehenden Zellen, wie sie sich häufig im Uterus vorfinden, unterscheiden. Sicherlich teilt er sich gegen Ende der zweiten Reifeteilung; seine Durchschnürung konnte ich zwar nicht beobachten, da mir die betreffenden Stadien und demgemäß auch die Stadien der Ausstoßung des zweiten Polkörpers fehlen. Auf seine Teilung läßt sich aber daraus schließen, daß man erstens stets isolierte Chromosomen in ihm findet, und daß zweitens in allen reifen Eiern drei Richtungskörper vorhanden sind (Fig. 19, 23 u. 29). Die Abschnürung des zweiten Richtungskörpers konnte ich, wie gesagt, nicht beobachten. Sie wird aber in gleicher Weise wie die des ersten vor sich gehen. Nur dürfte er etwas kleiner sein, da er sich nicht noch einmal teilt, und die drei Richtungskörper der reifen Eier gleicher Größe sind. Von andern in den Uterus eingedrungenen Zellen, Nährzellen und Spermatogonien, unterscheiden sie sich einmal durch ihre längliche Form und dadurch, daß sie häufig dicht hintereinander in einer Reihe liegen. Sie sind im Gegensatz zum Verhalten bei andern Trematoden meist noch sehr lange zu erkennen, oft sogar bis in die ersten Furchungsstadien hinein.

III. Die Bildung der Vorkerne.

1. Bildung des Eikernes.

Nach der zweiten Reifeteilung bleiben im Ei sechs Chromosomen zurück, die dem kaum noch mit Strahlung versehenen, aber sehr scharf hervortretenden großen Eicentrosom dicht angelagert sind (Fig. 19). Da sich die zweite Reifespindel durch das ganze Ei erstreckte, so liegt das Centrosom mit den Chromosomen nahe dem vegetativen Pole des Eies. Telophasen der zweiten Reifeteilung lassen sich von denen der ersten an der Anwesenheit des Richtungskörpers unterscheiden. So beweist auf der Fig. 13 die durch das Centrosom und die isolierten Chromosomen sich als erster Polkörper dokumentierende Zelle, daß das Ei sich in einem Stadium zwischen der ersten und zweiten Reifeteilung befindet. Dagegen finden wir auf Fig. 19 die drei typischen Richtungskörper, so daß dieses also ein reifes Ei darstellt. Nunmehr beginnt der vom *Polystomum* her schon bekannte Prozeß der Karyomeritenbildung. Die Chromosomen beginnen zu verschieden gestalteten Körperchen aufzuquellen. Sie werden lockerer, umgeben sich mit hellen Höfen und rücken mehr und mehr auseinander (Fig. 21). Die einzelnen Höfe sind anfangs völlig getrennt

und absolut farblos. Ein Kernnetz ist hier auch bei Eosinfärbung nicht zu erkennen. Die Karyomeriten sind zuerst natürlich in der Sechszahl vorhanden, bald spalten sie jedoch kleinere Brocken ab, so daß ihre Zahl zu wachsen beginnt. Vor der Vereinigung der beiden Vorkerne findet man ihre Zahl gewöhnlich auf ungefähr zwölf angewachsen (Fig. 22, 23). Die Größenverhältnisse schwanken ebenso wie die Zahl. Immerhin besteht eine gewisse Beziehung zu der Größe der Chromosomen; etwa die Hälfte ist beträchtlich größer.

Im ersten Bildungsstadium färben sich die Karyomeriten nicht sehr stark (Fig. 21—23). Es sieht aus, als ob die Chromosomen in äußerst zahlreiche, sehr kleine Körnchen zerfallen wären, die viele winzig kleine Räume zwischen sich frei und darum farblos durchschimmern lassen. Sie haben ungefähr dasselbe Aussehen wie die schwarzen Centrosomen des unreifen Eies. Nachdem sie noch etwas herangewachsen sind, aber lange bevor sie die volle Größe erreicht haben, pflegt die Vereinigung der beiden Vorkerne stattzufinden. Es sollen darum, bevor ich in der Schilderung des Verhaltens der Karyomeriten fortfahre, zunächst die bei der Befruchtung sich abspielenden Vorgänge betrachtet werden.

2. Bildung des Samenkernes.

Die Befruchtung scheint meist stattzufinden, während das Ei noch im Ootyp liegt; man findet es nämlich hier sehr häufig von zahlreichen Spermatozoen umgeben, während im Uterus nur gelegentlich Samenfäden wahrzunehmen sind. Das Spermatozoon dringt in das unreife Ei ein, wenn die Chromosomenausbildung beginnt (Fig. 7). Im Bau gleicht es dem andrer Trematoden. Es hat einen sehr kleinen Kopf, der ohne ein deutlich abgesetztes Mittelstück in den Schwanzfaden übergeht. Die Stelle des Eindringens ist nicht fest bestimmt. Man findet den männlichen Vorkern während der Reifeteilungen stets seitlich von der Spindel nahe dem Rande gelegen: bald zwischen beiden Polen (Fig. 10, 11, 13), bald auch dem einen von ihnen sehr genähert (Fig. 9, 12, 15, 17 mehr oder weniger seitlich vom Eicentrosom; auf Fig. 14 und 16 dem animalen Pole genähert). Vor Ausbildung der ersten Reifespindel schwindet der Schwanzteil. Mit dem Kopf geht eine merkwürdige Veränderung vor sich: er zerfällt nämlich in seine Chromosomen, ein Vorgang, der von Goldschmidt bei *Polystomum* entdeckt wurde und der allen Trematoden zuzukommen scheint. Die Spermachromosomen liegen während beider Reifeteilungen nahe der Eioberfläche im Plasma innerhalb eines kleinen ovalen Hofes, der aber keineswegs scharf begrenzt ist (außer Fig. 9—17, die stärker vergrößerte Fig. 20). Sie sind äußerst klein und dünn, und

da sie sich zumeist nur schwach färben, können sie leicht übersehen werden. An günstigen Präparaten kann man jedoch sowohl ihre Zahl, als auch ihren Bau genau feststellen. Es sind stets sechs Stück, die ebenso wie die Eichromosomen verschiedener Größe sind. Außerdem ist auch ihre Zusammensetzung aus kleinen, hintereinander gereihten Körnchen deutlich wahrzunehmen. Bis die Reifeteilungen abgelaufen sind, bleibt der Spermakern ohne jede Veränderung am Rande der Eizelle liegen, um dann, wenn die Chromosomen des Eikernes sich in Karyomeriten umzuwandeln beginnen, ganz die gleiche Umbildung durchzumachen. Seine Chromosomen quellen in derselben Weise auf. Anfangs liegen sie noch nahe beisammen und sind noch ziemlich chromosomenähnlich (Fig. 21). Bald jedoch werden sie größer, umgeben sich mit hellen, völlig voneinander getrennten Höfen und rücken weiter auseinander. Dabei vermehrt sich ebenfalls ihre Zahl durch Absplitterung. So finden sich auf der Fig. 22 zehn Stück, auf dem etwas älteren Stadium der Fig. 23 etwa 12—13 Karyomeriten, welche ähnliche Größenunterschiede aufweisen wie die des Eikernes. Auch Form und Färbung ist die gleiche. Das Wachstum der beiden Vorkerne hält ungefähr gleichen Schritt, doch pflegt meist der Eikern um eine Kleinigkeit voraus zu sein. Wenn der männliche Vorkern den weiblichen berührt, bestehen beide aus etwa zwölf ungleich großen, noch etwas körnig gefärbten Karyomeriten von unregelmäßiger Form. Jeder liegt innerhalb eines hellen, noch völlig strukturlosen Hofes. Nunmehr muß eine Verschmelzung von Karyomeriten stattfinden, denn alle späteren Stadien weisen nur noch ganz ausnahmsweise mehr als zwölf Karyomeriten auf. Auf Fig. 25 sieht man zum ersten Mal nur noch zwölf Karyomeriten. Sie gleichen denen der Fig. 24 noch ziemlich, doch scheinen die bisher isolierten Höfe nunmehr miteinander zu verschmelzen und sich zugleich mittels einer Membran schärfer gegen das Plasma abzusetzen. Wie diese Verschmelzung der Karyomeriten vor sich geht, konnte ich nicht feststellen; möglich, daß je ein männlicher Karyomerit sich mit einem weiblichen vereinigt, möglich jedoch auch, daß innerhalb jedes Vorkernes die Verschmelzung stattfindet oder überhaupt keine Regel herrscht. Ausnahmsweise ist jedoch, wie auch schon Goldschmidt beobachtete, die Zahl der Karyomeriten eine wesentlich höhere (bis über 20). Vielleicht hat hier der Verschmelzungsprozeß nicht stattgefunden — oder es könnte auch eine abnorme Polyspermie vorliegen, wie es mir bei dem Ei der Fig. 26 der Fall zu sein scheint. Hier hat entschieden die Verschmelzung der beiden Vorkerne stattgefunden. Es sind etwa zwölf Karyomeriten (auf dem Schnitt nur vier getroffen), außer diesen aber noch ein Bläschen vorhanden, in

welchem sechs chromosomenartige Stäbchen deutlich zu erkennen sind, so daß hierin ein zweiter Spermakern vermutet werden könnte. Wenn sich dessen Chromosomen noch in Karyomeriten umwandeln, erhält man natürlich eine abnorm höhere Zahl.

Was schließlich KATHARINERS Angaben und Bilder dieser Stadien, seine Fig. 9 und 10, betrifft, so kann ich nur sagen, daß ich sie mit meinen Befunden absolut nicht in Einklang bringen kann. GOLDSCHMIDT stellt übrigens die Vorgänge bei der Bildung der Vorkerne des *Polystomum* in etwas andrer Weise dar. Wie ich schon bei der Besprechung der Umwandlungen des Nucleolus im unreifen Ei erwähnt habe, können die auf Fig. 4 und 8 GOLDSCHMIDTS abgebildeten männlichen Elemente nicht solche darstellen, denn zweifellos befinden sich diese Eier bereits in einem Stadium nach der Verschmelzung der beiden Geschlechtskerne. Vermutlich zerfällt der Spermakopf gleich nach dem Eindringen während der Ausbildung der ersten Reifespindel in seine Chromosomen, wie es GOLDSCHMIDT auch bei *Zoogonus* gefunden hat. Im weiteren Verlaufe aber verhalten sich die Chromosomen des Samen- und Eikernes etwas anders als nach meiner Schilderung. Sie zerfallen nämlich in kleine chromatische Kügelchen, welche auf blaß gefärbten, als Plastin gedeuteten Zügen liegen. Die Chromatinkörnchen rücken dann weiter auseinander, bleiben jedoch stets noch durch die Plastinzüge paarweise miteinander in Verbindung. Schließlich geht aus dem Plastin ein Gerüst hervor, in dessen Knotenpunkten die Chromatinkügelchen liegen. Hierauf schwinden bald die Plastinzüge, und die inzwischen angewachsenen Karyomeriten werden von hellen Höfen umgeben, welche miteinander in Verbindung stehen. Sie gleichen jetzt völlig den Karyomeriten von *Gyrodactylus*, wie ich sie auf den Stadien kurz nach der Vereinigung der beiden Vorkerne abgebildet habe (Fig. 24). Bei *Polystomum* findet also anfangs eine Trennung der beiden Chromosomenbestandteile, des Chromatins und des Plastins, statt. Da letzteres dann etwas später wieder in die Chromatinkügelchen einbezogen wird, so besteht zu dem Verhalten der Karyomeriten bei *Gyrodactylus* kein prinzipieller Unterschied.

Nach ihrer Vereinigung kann man die beiden Geschlechtskerne, wenigstens mit Sicherheit, nicht mehr unterscheiden. Wir können deshalb das weitere Verhalten der männlichen und weiblichen Karyomeriten nunmehr gemeinsam besprechen.

3. Der Furchungskern.

Jetzt setzt nun ein intensives Wachstum der Karyomeriten ein. Sicherlich wird dies durch Flüssigkeitsaufnahme aus dem Plasma bewirkt,

worauf einerseits die hellen Höfe hinweisen, wie schon von Goldschmidt vermutet wird, und ferner der Umstand, daß der Inhalt der Karyomeriten nunmehr vollkommen flüssig geworden sein muß; denn die Karyomeriten sind aus der bisher unregelmäßigen Gestalt in die reine Kugelform übergegangen (Fig. 26ff.). Diese physikalische Umwandlung deutet sich färberisch dadurch an, daß die Karyomeriten sich völlig homogen und sehr intensiv färben. Die anfangs noch kleinen hellen Höfe haben dabei natürlich auch sehr an Umfang zugenommen. Sie stehen jetzt sämtlich, mehr oder weniger breit, miteinander in Verbindung und sind von einer deutlichen, einheitlichen Kernmembran gegen das Plasma scharf abgegrenzt. Zu dieser Zeit erst wird in ihrem Innern ein deutliches völlig achromatisches Kernnetz sichtbar. Der ganze Kern stellt ein ungemein gelapptes Gebilde vor, welches den größten Teil des Eies erfüllt. Bei einer Schnittdicke von 5 μ erstreckt sich der Kern stets über vier bis fünf Schnitte, so daß ein einzelner Schnitt von dem wirklichen Aussehen keine rechte Vorstellung geben kann, eine Kombination aller Schnitte das Bild aber ganz unübersichtlich machen würde. Ich habe daher auf keinem Bilde sämtliche Karyomeriten zur Darstellung gebracht, sondern meist nur zwei Schnitte miteinander kombiniert. Außer dem Wachstum durch Flüssigkeitsaufnahme findet auch noch eine Vergrößerung durch Verschmelzung von Karyomeriten statt. Darauf weist einmal die mit dem ferneren Wachstum konstante Abnahme in der Zahl hin, welche mit dem Auftreten von sehr großen Karyomeriten (Fig. 28) Hand in Hand geht. Andrerseits gelang es mir auch, allerdings nur ein einziges Mal, den Moment der Vereinigung im Präparat zu erhalten (Fig. 27). Daß man diesen so regelmäßig in Ei- und Furchungszellen stattfindenden und darum eigentlich so häufigen Prozeß so selten beobachten kann, wird dadurch verständlich, daß es sich um die Vereinigung zweier Flüssigkeitstropfen handelt, welche naturgemäß momentan vor sich geht. Die Herabminderung der Zahl geht meist bis auf etwa sechs vor sich. Halkin stellte ebenfalls mit dem Wachstum eine Abnahme der Zahl fest, während Goldschmidt das gesetzmäßige dieses Vorganges nicht recht erkennen konnte. Jörgensen (1913) glaubt, daß alle Nucleolen durch Aufnahme gelöster Stoffe wachsen: »Eine Verschmelzung mehrerer kleinerer zu wenigen größeren Nucleolen wurde nur in seltenen Fällen beobachtet.«

IV. Die erste Furchung.

1. Die Ausbildung der Chromosomen.

Mit den eben geschilderten Vorgängen haben die Karyomeriten den Höhepunkt ihrer Ausbildung erreicht. Die sich daran anschließenden

Erscheinungen führen zu ihrer Auflösung, welche mit der Chromosomenausbildung Hand in Hand geht. In den herangewachsenen Karyomeriten treten bald Vacuolen auf, oft eine ganze Menge kleinerer, aber auch eine größere, welche von einigen kleineren umgeben wird (Fig. 27, 28 u. 29). Es scheint jetzt der umgekehrte Prozeß stattzufinden: Durch die Vacuolen wird Flüssigkeit aus den Karyomeriten ausgeschieden; dadurch wird die »Chromatinlösung« konzentrierter, und schließlich beginnt das Chromatin wieder körnig auszufallen. Daß die Karyomeriten jetzt nicht mehr Flüssigkeitstropfen darstellen, dokumentiert sich wieder dadurch, daß die Kugelform allmählich aufgegeben wird. Zugleich findet auch eine allmähliche Abnahme der chromatischen Tingierbarkeit statt. Auf Fig. 28 zeigen die beiden großen Karyomeriten, welche offenbar durch Verschmelzung von je zwei Stück entstanden sind, diesen Prozeß sehr deutlich; ein Teil ist völlig achromatisch durch starke Vacuolisation schaumig erscheinend, während der chromatische Teil wie angefressen aussieht. Der eine von ihnen besitzt zwei kappenförmige stark tingierte Abschnitte. Ich glaube, es liegt auch hier wieder der gleiche Prozeß der Reaktionsumkehr wie beim Nucleolus des unreifen Eies vor, denn nach und nach wird jeder Karyomerit für Kernfarben völlig unempfänglich und färbt sich nur mit Plasmafarben. Die Vacuolen sind dann auch geschwunden und er stellt schließlich nur noch eine breite, plasmaähnliche, nicht scharf begrenzte Masse dar, welche höchstens noch an einigen Stellen schwach chromatisch ist. Innerhalb dieser Massen lassen sich nunmehr auf einigen Bildern aus hintereinandergereihten Körnchen bestehende schwarz tingierte Chromosomen erkennen. Ich muß hier auf Bilder nach der ersten Furchung verweisen, welche aber genau die gleichen Verhältnisse wie die vom reifen Ei dargestellten zeigen, so daß sie ohne jedes Bedenken zur Ergänzung herangezogen werden dürfen. Daß das auf Fig. 35 abgebildete Chromosom wirklich innerhalb des aufgelösten Karyomeriten gelegen ist, beweist sehr deutlich eine das Chromosom umgebende Vacuole, sowie die Tatsache, daß die über dem Chromosom gelegene Hälfte des Karyomeriten im vorhergehenden Schnitte gelegen ist. Ähnlich sind die Bilder der Fig. 33 und 34. Die Chromosomen gelangen dann ins Kernnetz. Die schon oben bei der Ausbildung der Reifechromosomen ausgesprochene Vermutung, daß dieser Vorgang einer Einwirkung des Centrosoms zuzuschreiben ist, machen Bilder wie Fig. 30, 36 und 37 wahrscheinlich, wo die Mehrzahl der Chromosomen bereits ausgebildet ist und alle gegen das schon ziemlich stark strahlende Centrosom gerichtet sind. Hinzuzufügen ist noch, daß niemals alle Karyomeriten zu gleicher Zeit diesen Auflösungsprozeß durchmachen, immer beginnt er bei einigen größeren zuerst.

Manche Bilder lassen allerdings die eben gegebene Schilderung der Entstehung der Furchungschromosomen wieder zweifelhaft erscheinen. Zum mindesten verlangen sie noch eine besondere Erklärung. Man findet nämlich nicht selten schon die Mehrzahl der Chromosomen als körnige Fäden im Kernnetz liegen, außer ihnen aber eine große Anzahl (bis zu acht) erst mit Vacuolen versehener, sonst aber noch völlig unaufgelöster schwarzer Karyomeriten. Wir hatten gesehen, daß durch Verschmelzung die Zahl der Karyomeriten in der Regel bis auf sechs gesunken ist, wenn die Auflösung an einem der größeren von ihnen ihren Anfang nimmt. Da in der Äquatorialplatte von den Furchungsspindeln sich zwölf Chromosomen befinden, so könnte man wohl annehmen, daß aus jedem Karyomerit zwei Chromosomen hervorgehen. Goldschmidt konnte bei *Polystomum* über die Beziehungen zwischen den Zahlen der Karyomeriten und denen der Chromosomen keine Klarheit gewinnen. Er fand im Spermakern acht Stück paarweis angeordnet und einen centralen großen neunten, welchen er als Centrosom deutet. Da die Normalzahl der Chromosomen für *Polystomum* acht beträgt, mithin im Spermakern vier vorhanden sein müssen, so könnte jedes Paar Karyomeriten einem Chromosom entsprechen. Für den Eikern fand er jedoch diese Beziehung nicht bestätigt, da die Zahl der Karyomeriten hier erheblich größer war. Da Goldschmidt die Stadien, in welchen eine Vereinigung der beiden Vorkerne stattgefunden hat, irrtümlich als einen Zerfall vom Nucleolus des unreifen Eies in Karyomeriten gedeutet hat, so ist er auch auf die stattfindende Zahlenverminderung nicht aufmerksam geworden; Halkin berichtet dagegen davon. Die weiteren Prozesse der Karyomeritenauflösung und der Chromosomenausbildung konnten jedoch beide Autoren nicht genau verfolgen[1]).

Ich hatte vorhin gesagt, daß man bei *Gyrodactylus* aus den Zahlenverhältnissen schließen könne, daß aus einem Karyomerit zwei Chromosomen hervorgehen. Bilder aber, wo erst ein bis zwei Karyomeriten aufgelöst, dagegen noch viele ziemlich unveränderte Wachstumskaryomeriten vorhanden sind und dennoch die Mehrzahl der Chromosomen (wenn nicht alle) sicherlich schon ausgebildet ist, machen es wahrscheinlich, daß aus den aufgelösten Karyomeriten viele Chromosomen ihren Ursprung genommen haben. Eine Bestätigung hierfür liefern die Fig. 35 und 36, die zwei aufeinanderfolgende Schnitte einer Furchungszelle darstellen. Es sind wohl schon alle zwölf Chromosomen ausgebildet, außer ihnen aber noch sieben unaufgelöste Karyomeriten vorhanden. Erst ein einziger

---

[1]) Goldschmidt neigt übrigens jetzt zu der Annahme, daß auch *Polystomum* zwölf Chromosomen besitzt. Bei den großen Schwierigkeiten, die dieses Objekt der Fixierung bietet, hält er einen Zählungsfehler seinerseits für nicht unwahrscheinlich.

Karyomerit ist aufgelöst und in ihm liegt noch ein Chromosom im Begriffe herauszukommen. Es scheinen also die Chromosomen nur in den ein- bis zwei größten Karyomeriten vorhanden zu sein, während das Material der übrigen erst sekundär zur Ernährung der Chromosomen zu dienen scheint. Auf letzteres weist der Umstand hin, daß man nicht selten die Chromosomenfäden mit einem Ende nahe dem noch unaufgelösten Karyomeriten findet. Sie stehen aber wohl niemals mit ihnen direkt in Verbindung, wie es Goldschmidt verschiedentlich abbildet.

Wann hat nun diese Trennung der Karyomeriten in solche mit und ohne Chromosomeneinheiten stattgefunden, da doch sicherlich anfangs aus jedem Chromosom ein Karyomerit hervorgegangen ist? Gleich nach der ersten Umbildung der Chromosomen des Ei- und Samenkernes in Karyomeriten fand durch Teilung ungefähr eine Verdoppelung statt; dabei muß wohl in beiden Vorkernen die Sonderung stattgefunden haben. Die bei der Vereinigung der Geschlechtskerne und die späterhin noch stattfindenden Verschmelzungen von Karyomeriten sammeln vermutlich alle chromosomhaltigen Teile in einigen wenigen großen Karyomeriten, aus welchen sie hernach wieder hervorgehen, während die übrigen gewöhnliche Nucleolen darstellen würden. Was die Ausbildung der Chromosomen anbetrifft, so glaubt Kathariner ebenso wie Janicki, daß das Chromatin in Körnchenform aus den Nucleolen in den Kern übertritt, ein Vorgang, der mit dem gänzlichen Verschwinden der Nucleolen abschließt. Nach Auflösung der Kernmembran sollen dann diese Körnchen ins Plasma gelangen und hier erst Chromosomen daraus entstehen. Letzteres ist gänzlich falsch: Schon vor der Auflösung der Kernmembran sind die Chromosomen vorhanden, Bilder aber, wie sie Kathariner gibt in seiner Fig. 20 und 21, wo alle Nucleolen aufgelöst und ihr Chromatin als Körnchen im Kernraum verteilt sein soll, halte ich für Artefakte. Auf solchen Stadien finde ich stets sehr deutliche, aus aneinandergereihten Körnchen bestehende Chromosomenfäden.

Die Bildung des Befruchtungskernes sowie jedes Teilungskernes aus einzelnen Bläschen (Karyomeren) scheint ein sehr weit verbreiteter Vorgang zu sein. Er ist seit Bütschli (1876) häufig beschrieben worden. Über die Entstehung dieser Karyomeren gibt neuerdings Vejdovsky (1907) eine eingehende Schilderung. Nach ihm besteht der helle Hof, welcher bei *Polystomum* und *Gyrodactylus* die jungen Karyomeriten umgibt, aus einer gallertigen Masse, welche aus der achromatischen Substanz der Chromosomen hervorgegangen sein soll. Die Chromosomen liegen anfangs noch deutlich erkennbar in dem Hof; dann jedoch läßt ihre chromatische Färbbarkeit allmählich nach, und sie werden zu ver-

längerten undeutlichen Fäden, welche auf ihrer Oberfläche chromatische Tröpfchen ausscheiden: die Nucleolen. Er glaubt nun, daß auch bei *Polystomum* und *Gyrodactylus* die gleichen Vorgänge stattfinden, daß also die Karyomeriten nichts weiter als von den Chromosomen ausgeschiedene Nucleolen darstellen. Er ist der Meinung, daß die diesbezüglichen »ersten Bildungsstadien der Karyomeren nicht zur Beobachtung kamen, sondern erst nach sehr weit vorgeschrittener Differenzierung der chromatischen Substanzen und des Plastins mit Nucleolen«. Dem gegenüber kann man wohl sagen, daß die außerordentlich starke Entwicklung der nucleolenartigen Gebilde bei *Polystomum* und *Gyrodactylus* es auch wahlrscheinlich macht, daß sie nicht die gleiche Entwicklung genommen haben können, wie sie Vejdovsky für Anneliden angibt. Diese riesigen Gebilde als Abscheidungen winziger Chromosomen anzusehen, ist an und für sich schon wenig einleuchtend; zudem habe ich oben auseinandergesetzt, daß die jungen Karyomeriten keine Flüssigkeitströpfchen darstellen, sondern aus einer noch zäheren Masse wie die Chromosomen selbst bestehen und erst bei zunehmender Größe reine Flüssigkeitstropfen werden, wie durch die homogene intensive Färbung und besonders die nunmehr erst vorhandene volle Kugelgestalt bewiesen wird.

Ich glaube, es ist überhaupt unmöglich, alles das, was als Nucleolen beschrieben wurde, unter einen Hut zu bringen. Eine ausgezeichnete Übersicht über die jetzt herrschenden Ansichten betreffs der Bedeutung der Nucleolen gibt Jörgensen (1913), worauf ich hier verweisen möchte. Seiner Kritik kann keine einzige standhalten, weder Strasburgers Ansicht von der kinoplasmatischen Natur der Nucleolen noch Häckers Kernsekrettheorie, noch die Anschauung, daß ihr Material mit zur Ausbildung der Chromosomen verwandt wird, oder die noch weitergehende, in dieser Arbeit vertretene Auffassung, daß die Chromosomen in den Nucleolen selbst enthalten sind. Allein auch Jörgensen vermag keine neue positive einheitliche Theorie über die Funktion des Nucleolus aufzustellen, indem er zugeben muß, daß der große Tatsachenkomplex eine exakte Vorstellung über die Funktion der Nucleolarsubstanzen sehr erschwert. Wenn er nun sagt: »Dabei bin ich persönlich davon überzeugt, daß die Nucleolen in den Eiern verschiedener Tiere auch eine ganz verschiedene chemische Zusammensetzung haben und daher überhaupt nicht miteinander zu vergleichen sind,« so spricht er schon selbst aus, daß an eine einheitliche Lösung der Nucleolenfrage nicht gedacht werden kann, und daß aus dem Umstande, daß eine der bestehenden Theorien nicht für alle Fälle gültig ist, ihre völlige Ungültigkeit nicht abzuleiten ist.

2. Herkunft der Centrosomen der ersten Furchungsspindel.

Schon bei der Besprechung der Ausbildung des männlichen Vorkernes hatte ich darauf hingewiesen, daß auf keinem Stadium etwas Centrosomenähnliches, oder auch nur die geringste Spur einer Strahlung an ihm wahrzunehmen ist. Wird es dadurch schon unwahrscheinlich, daß das Centrosom der ersten Furchungsspindel vom Spermakern stammen kann, so macht das merkwürdige Verhalten des Eicentrosoms diese Auffassung wohl ganz unmöglich. Die überaus großen und vom Plasma außerordentlich scharf abgesetzten Centrosomen, wie sie bei *Gyrodactylus* während der Reifeteilungen auftreten, machen die Eier dieses Tieres zur Beurteilung dieser Frage zu einem besonders günstigen Objekte[1]). Nach Ausstoßung des zweiten Richtungskörpers findet sich, da die Spindel durchs ganze Ei geht, nahe dem vegetativen Pole das große Eicentrosom mit den dicht anliegenden Chromosomen des Eikernes (Fig. 19). Obwohl die Strahlung völlig aufgehört hat, unterscheidet es sich dennoch durch sein homogenes, mit Eosin sich intensiv färbendes Centroplasma scharf von dem körnigen Protoplasma des Eies. Während der nun einsetzenden Karyomeritenbildung bleibt es beständig deutlich sichtbar. Als einziger Unterschied macht sich eine vom Rande aus nach dem Innern zunehmende dunkle Färbung und Hand in Hand damit ein Nachlassen in der Größe bemerkbar (Fig. 21—24). Daß das Centriol während dieser Stadien nicht deutlich nachzuweisen ist, hat wohl keine Bedeutung, da ja die Darstellung dieses Gebildes immer etwas schwankend ist. Auf einigen Bildern sind jedoch der helle Hof und das Centriol schwach zu erkennen (Fig. 22, 23). Durch das Centrosom ist der Eikern bis zur Vereinigung der beiden Vorkerne mit absoluter Sicherheit zu erkennen. Sind beide Geschlechtskerne verschmolzen, so ist es auch dann noch vorhanden und von gleichem Aussehen (Fig. 24). Auf dem nächsten Stadium, wo die zuvor über 20 betragende Zahl der Karyomeriten auf zwölf sich vermindert hat, erkennt man mit großer Deutlichkeit, daß innerhalb des alten Centrosoms das Centriol sich geteilt hat und an die Längspole der Ellipse auseinandergerückt ist (Fig. 25). Es ist wohl ziemlich sicher, daß dann die völlige Durchschnürung des alten Centrosoms stattfindet. Den Beweis dafür liefert das nächste Bild (Fig. 26). Am selben Eipol liegen zwei kugelige, körnig gefärbte chromatische Gebilde von genau demselben Bau, gleicher Größe und Färbung, wie die

[1]) Allerdings sei darauf hingewiesen, daß man bei *Gyrodactylus* seiner biologischen Eigentümlichkeiten wegen auf Experimente, dieses so wichtige Hilfsmittel wissenschaftlicher Erkenntnis, verzichten muß.

inaktiven Centrosomen des unreifen Eies. Über ihre wirkliche Centrosomennatur kann kein Zweifel bestehen. Auf einem nächsten Stadium, welches durch die beginnende Auflösung der Karyomeriten als älter zu erkennen ist, finden wir die Centrosomen polständig gegenüber stehen (Fig. 29). Hierauf beginnt Hand in Hand mit der Chromosomenausbildung genau der gleiche Prozeß des Wachstums und der Entfärbung mit dem Auftreten der Strahlung, wie ich ihn bereits bei der Ausbildung der ersten Reifespindel ausführlich geschildert habe. Die schließlich daraus hervorgehenden Centrosomen der ersten Furchungsspindel haben genau das gleiche Aussehen wie die der Reifeteilungen, wie auch Schellenberg bei *Distomum hepaticum* betont. Einen weiteren Beweis gibt uns ferner das Verhalten der Centrosomen in allen Furchungszellen. In der Telophase werden regelmäßig die Centrosomen vom Rande her schwarz, indem ihre Größe auch etwas abnimmt. Während dieser Vorgänge beginnt stets die Karyomeritenbildung. Teilung des Centriols konnte ich zwar nicht wieder auffinden; was jedoch nicht von Bedeutung ist, da ich nicht allzuviel Furchungszellen daraufhin untersucht habe. Dagegen erst wenig auseinandergerückte schwarze Centrosomen konnte ich noch ein paarmal beobachten, z. B. Fig. 38. Die Teilung findet auch hier immer erst statt, wenn die Karyomeriten in die Kugelform übergehen. Polständige, schwarze und in allen Stadien der Umbildung begriffene, konnte ich dagegen zahlreich beobachten.

Aus dieser Schilderung geht wohl zur Genüge hervor, daß bei *Gyrodactylus* nicht nur das Centriol erhalten bleibt, sondern auch das Centroplasma, so daß also ein echtes Centrosom im Sinne Boveris vorliegt.

Es kommt mir natürlich nicht zu. die schier unermeßliche Literatur über die Frage nach der Herkunft der Teilungscentren der ersten Furchungsspindel, diesen seit jeher so strittigen Punkt der modernen Cytologie auf Grund eines einzigen Befundes einer eingehenden Kritik zu unterziehen. Ich kann dies um so eher unterlassen, als es bereits von Kostanecki (1906) geschehen ist, und ich dort Gesagtes nur wiederholen könnte. Lediglich soll nur das berücksichtigt werden, was zur Stütze meiner Befunde Kostaneckis Ansichten gegenüber dienen kann.

Bekanntlich vertritt eine große Zahl der Forscher den Standpunkt Boveris, wonach das Centrosom der ersten Furchung immer vom Spermakern abstammen soll. Eine gewisse Schwierigkeit des exakten Beweises hierfür ergibt sich in den Fällen, wo die Strahlung des Spermakernes für eine Zeit lang schwindet, um erst nach der Vereinigung der beiden Vorkerne wieder aufzutreten. Solchen Fällen geben denn auch einige Forscher eine andere Deutung: Entweder stammen die Centro-

somen und Strahlungen vom alten Oocentrum (WHEELER 1897) oder sie sind überhaupt Neubildungen (LILLIE 1898)[1]). Wenn das Eicentrosom samt seiner Strahlung ebenfalls geschwunden ist, ist letztere Erklärung besonders naheliegend. Zur Gewißheit wird sie wohl bei parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von Insekten; denn da in Reifeteilungen von Insekten bisher niemals ein Centrosom oder Centriol nachgewiesen wurde, bei parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern (z. B. Drohneneiern, NACHTSHEIM 1913) mit dem Fehlen der Befruchtung auch kein Spermacentrosom vorhanden sein kann, so ist eine Entstehung »de novo« sicherlich das Nächstliegendste. Die andre Möglichkeit, die Abstammung vom Eicentrosom, wie sie nach meinen Befunden bei *Gyrodactylus* verwirklicht zu sein scheint, wurde bisher eigentlich nur von WHEELER (1895 und 1897) bei *Myzostoma* nachgewiesen. Freilich kam KOSTANECKI (1906) bei der Nachprüfung der WHEELERschen Befunde zu einem andern Resultat. Nach ihm stammt auch hier das Furchungscentrosom vom Spermakern ab. Es gelang ihm am Samenkern während seiner Wanderung zum Eikern eine einfache oder doppelte Strahlung nachzuweisen, während WHEELER nichts Derartiges gesehen hat. Freilich schwindet sie wieder, aber auch das Eicentrosom und seine Strahlung, die hier nur ausnahmsweise sehr lang erhalten geblieben seien, sollen schließlich schwinden, bzw. völlig zugrunde gehen. Nach der Vereinigung der beiden Vorkerne sollen dann Centrosomen und Strahlungen genau an der Stelle auftreten, wo die anfangs vorhandenen Spermastrahlungen geschwunden waren. Hören wir noch, wie KOSTANECKI selbst seinen Standpunkt formuliert: »Wenn nun nach Annäherung der beiden Geschlechtskerne plötzlich zwischen ihnen eine Strahlungsfigur mit Centrosomen erscheint, so könnte dieselbe von zweierlei Herkunft sein: Entweder ist sie die zeitweise unterdrückte Strahlung des Eikernes und sein Centrosoma, die aber, dies muß betont werden, von neuem in Aktion treten müssen, da ich ihren Fortbestand bis dahin entschieden in Abrede stellen muß, oder aber sie können von Samenfäden eingeführt sein, nur daß sie bis dahin latent waren.«

Schauen wir aber zuerst nach, was die Untersucher andrer Trematodenformen über diesen Punkt berichten. KATHARINERS Angaben vom *Gyrodactylus* sind recht dürftig. Auf seiner Fig. 9 zeichnet er an den als männlichen Vorkern bezeichneten zwei Karyomeriten zwei kleine Körnchen ab, die er als geteiltes Centriol des Spermakerns ansieht. Da aber seine ganze

[1]) FOLS (1891) bekannte «Quadrille des centres», wonach je ein Centrosom des Spermakerns mit einem des Eikernes verschmelzen soll, ist wohl nirgends verwirklicht.

Darstellung der Entstehung der Vorkerne absolut ungenau ist, so ist auch dieser Beobachtung bzw. ihrer Deutung — es sind wohl ebenfalls Karyomeriten, nur sehr viel kleinere — kein Wert beizulegen, zumal auf dem älteren Stadium der Fig. 10 nichts mehr davon zu sehen ist. Die erste Furchung sah er überhaupt nicht und die Umwandlung des Centrosoms fiel ihm ebenfalls nicht auf. Goldschmidt nahm bei *Polystomum* am Samenkern auch keine Strahlung wahr. In einem Karyomeriten, welcher sich durch seine Größe und centrale Lage von den acht andern paarweise angeordneten zu unterscheiden schien, vermutet er freilich das Centrosom. Wie er ausdrücklich betont, kann er diese Vermutung nicht beweisen; da sein Material zur Darstellung der achromatischen Strukturen während der Reifeteilungen sich wenig günstig erwies, so wird es wahrscheinlich, daß sich *Polystomum* vielleicht ähnlich wie *Gyrodactylus* verhält. Halkin, dessen *Polystomum*-Material in dieser Hinsicht entschieden günstiger war, vermutet allerdings, daß es vom Spermakern abstammt, betont jedoch ebenfalls, daß er keine positive Beobachtung dafür hat machen können. Da er nach den Reifeteilungen gleichfalls nichts mehr vom Eicentrosom gesehen hat, so bleibt es immerhin zweifelhaft, ob das auf seiner Fig. 21 und 22 gezeichnete schwarze Gebilde, das »corpuscule centrale« ist. In Analogie mit *Gyrodactylus* müßte auf diesem Stadium am Gegenpol ein gleiches Gebilde vorhanden sein, wovon er jedoch nichts erwähnt. Wie daraus das aktive Centrosom wird, hat er übrigens auch nicht beobachtet.

Bei *Zoogonus* trifft Goldschmidt bei seiner ersten Untersuchung (1905) noch keine Entscheidung. Das Centrosom tritt erst nach Vereinigung der Vorkerne schon geteilt in der Kopulationsebene auf, so daß sich über seine Herkunft nichts aussagen läßt. Bei seiner nochmaligen Untersuchung (1909) bildet er in einem einzigen Falle ein Spermacentrosom ab. Dagegen stimmt seine Beschreibung der Teilung des Centrosoms in Furchungszellen und die weitere Ausbildung völlig mit meiner Schilderung überein. Er sagt darüber: »In den Furchungszellen beginnen die Centrosomen auf dem Stadium der Tochterplatten wie ja auch bei andern Objekten sich bereits für den folgenden Teilungsschritt zu teilen. Das große, kugelige Centrosom streckt sich in die Länge, während im Innern das Centriol sich geteilt hat, im abgebildeten Fall die beiden Körnchen noch durch ein feines Fädchen verbunden sind. Während sich der Ruhekern ausbildet, rücken die beiden neuen Centrosomen, also beide in Form der großen kugeligen Centrosomen Boveris an gegenüberliegende Punkte des Kernes, und bleiben hier während der Zellruhe liegen (Fig. 31 nach einem schwach extrahierten Präparat). So wie hier abgebildet findet

man stets die Centrosomen ohne eine Spur von Strahlung oder Sphärensubstanz zwischen zwei Teilschritten dem ruhenden Kern anliegend. Dies paßt aber nur zu Boveris Centrosomenbegriff.«

In der gleichen Weise vollzieht sich bei *Gyrodactylus* während der Kopulation der Vorkerne die Teilung des Eicentrosoms und das Auseinanderrücken der großen schwarzen, kugeligen Teilstücke. Man vergleiche nur meine Fig. 25 mit Goldschmidts Fig. 32.

Für *Fasciola hepatica* liegen auch keine sicheren Angaben vor. Henneguy und Schellenberg sahen weder Centrosom noch Strahlung am Spermakern. Schubmann will allerdings am Samenkopf zwei kleine, als Centrosomen gedeutete Kügelchen gesehen haben; sie sollen stets in der Nähe des Spermakerns bleiben, während er gegen den weiblichen Vorkern vorrückt. Wenn der männliche Vorkern bläschenförmig geworden ist, sollen sich beide Kügelchen mit einer Strahlung umgeben. Er sagt dann: »Es kann somit wohl kaum gezweifelt werden daran, daß die beschriebenen Kügelchen als Centrosomen zu betrachten sind, die von den eingedrungenen Spermatozoen abstammen. Wir haben in der Oocyte somit den ruhenden weiblichen und männlichen Vorkern, letzterer kenntlich durch das anliegende Centrosomenpaar.« Mir scheinen für diese Interpretation die entscheidenden Stadien in seinen Zeichnungen zu fehlen. Nach meinem Dafürhalten ist das in seiner Fig. 32 abgebildete Centrosom das Eicentrosom mit geteiltem Centriol, dieser Vorkern also nicht, wie Schubmann es tut, als männlich, sondern als weiblich zu bezeichnen. Zu dieser Umdeutung fühle ich mich um so mehr berechtigt, als Schellenberg sich folgendermaßen äußert: »Jedenfalls zeigen meine Bilder, daß bei Ausbildung der Vorkerne deutlich zwei Centrosomen von der alten Form der Reifungscentrosomen vorhanden sind (Fig. 57 ist etwas überfärbt), ob aus dem restlichen Reifungscentrosom oder neu aus dem Spermakern entstanden, darüber geben meine Präparate keinen Aufschluß.«

Sicheres hat sich also bei keinem andern Trematoden bisher nachweisen lassen. Es scheint mir jedoch nicht ausgeschlossen, daß bei einer neuerlichen Untersuchung, vielleicht durch geeignetere Fixierung und Färbung, bestimmtere Resultate sich erzielen lassen, und daß diese den bei *Gyrodactylus* beschriebenen gleichen würden.

Entschieden stellt das Erhaltenbleiben des Ovocentrums den einfachsten Modus dar. Ein solches Verhalten paßt aber auch sehr gut zu andern Merkmalen niederer Organisation in der Cytologie der Trematoden: so sind allen die das ganze Ei durchziehenden Richtungsspindeln gemeinsam, ferner das Zerfallen des Spermakopfes in seine Chromosomen und die Bildung der Karyomeriten.

Den ähnlich lautenden Angaben WHEELERS für *Myzostoma* suchte KOSTANECKI vor allem dadurch den Boden zu entziehen, daß er erklärte, es läge nur ein außergewöhnlich langes Erhaltenbleiben des Eicentrosoms vor. Schließlich ginge es aber doch zugrunde. Solche erst spät schwindenden Eicentrosomen sind allerdings mehrfach beobachtet, so von KORSCHELT (1895) ausnahmsweise bei *Ophryotrocha*; KOSTANECKI beschreibt sogar noch Teilung des am Eikern verbliebenen Centriols, so bei *Physa fontinalis*, *Myzostoma*, *Cerebratulus*, *Mactra*, GRIFFIN bei *Zirphea* und *Thallassema*, aber bei allen geht es doch schließlich zugrunde, die Strahlung schwindet und das Centriol ist nicht mehr zu unterscheiden. Dem gegenüber betont schon VAN DER STRICHT, daß der Schwund der Strahlung nur das Auffinden der Centriolen unmöglich macht, nicht aber ihr Verschwinden beweist.

Bei *Gyrodactylus* liegen jedoch die Verhältnisse sehr viel klarer. Es bleibt nämlich nicht nur das Centriol, sondern das ganze Centrosom, Centriol + Centroplasma erhalten, dessen Größe und auch ohne die geringste Strahlung scharfes Hervortreten ein müheloses Nachweisen ermöglicht. Ferner ist es beständig, selbst noch während der Kopulation der Vorkerne, deutlich zu erkennen. Ein weiterer Vorteil andern Tieren gegenüber ergibt sich in der Lage des Eicentrosoms: da nämlich die zweite Reifespindel durchs ganze Ei geht, kommt das Eicentrosom an den vegetativen Pol zu liegen. Der männliche Vorkern rückt nun stets seitlich, mehr oder minder vom animalen Pol her gegen den weiblichen Vorkern vor, so daß niemals das Eicentrosom zwischen beide Vorkerne zu liegen kommt, wie bei andern Tieren, wo dieser Umstand es eben immer unmöglich macht zu entscheiden, ob die plötzlich wieder auftretenden Furchungscentrosomen aus dem alten Eicentrosom hervorgegangen sind, oder ob es die nur zeitweise nicht mehr strahlenden, dem männlichen Vorkern vorangehenden Spermacentrosomen sind, wie es KOSTANECKI glaubt. Spermastrahlung oder Centrosom sind aber bei *Gyrodactylus* überhaupt nicht nachzuweisen. Da bei *Gyrodactylus* die ruhenden Centrosomen als schwarze Kugeln stets zu erkennen sind, so sollte man annehmen, daß sie in gleicher Weise am Spermakern erkannt werden könnten, wenn sie vorhanden wären.

Ausdrücklich möchte ich betonen, daß ich in dem ununterbrochenen Fortbestand des Eicentrosoms etwas Primitives sehe, ein Verhalten, das wohl nur bei den wenigsten Tieren verwirklicht ist. Daneben bestehen sicherlich die Einführung des Centrosoms durch den Spermakern und auch die Entstehung »de novo«. KOSTANECKI geht gewiß zu weit, wenn er sich folgendermaßen ausdrückt: »Ich glaube indessen, daß in einer

so fundamentalen Frage ein prinzipieller Unterschied zwischen den verschiedenen Tierspecies nicht bestehen kann, daß hier vielmehr eine Einheitlichkeit herrscht, sowie in einer Reihe von andern Einzelheiten des Reifungs- und Befruchtungsprozesses graduelle Unterschiede vorkommen können, indem derselbe Prozeß bei einer Tierspecies mit größerer, bei der andern mit geringerer Deutlichkeit zutage tritt.« Mir scheint jedoch, daß selbst bei einem so wichtigen Vorgang wie der Befruchtung die Natur nicht nach einem Schema verfahren muß, wie es BOVERI in seiner bekannten Formulierung des Befruchtungsprozesses aufgestellt hat: daß nämlich dem Eikern zur weiteren Teilung das Centrosom, dem Spermakern das nötige Plasma fehle, und somit das eingeführte Spermacentrosom das eigentlich Befruchtende sei. In der Centrosomenfrage kann man sich wohl ruhig der Ansicht BRAUERS anschließen, daß nämlich das Centrosom nur die Bedeutung eines Teilungsorganes hat und daß es deshalb ganz gleichgültig sein kann, wo es herstammt, Hauptsache ist, daß es überhaupt vorhanden ist. Übrigens ist auch LILLIE in seiner letzten Arbeit der Überzeugung, daß die Centrosomenbefruchtungstheorie BOVERIS endgültig verlassen werden muß. Nach seiner Auffassung besteht innerhalb der Zelle "a certain qualitativ nucleo-plasmic relation"[1]), die durch den Reifeprozeß in Ei- und Samenzelle gestört wird. Die Bedeutung der Befruchtung liegt nun darin, daß sie die eingetretene Hemmung im Austausch zwischen Kern- und Plasmasubstanz wieder aufhebt.

3. Die erste Furchungsspindel.

Nachdem ich im vorigen Abschnitt über die Herkunft der Centrosomen der ersten Furchung gesprochen habe, bleibt über die Spindel selbst nicht mehr viel zu sagen übrig. In der Äquatorialplatte finden sich zwölf Chromosomen (Fig. 39). Sie fallen wieder durch verschiedene Größe auf, doch will ich darüber im Zusammenhang im nächsten Kapitel sprechen. Fig. 31 zeigt uns ein schönes Anaphasenbild, die Chromosomen sind schon fast an den Polen angelangt. Es lassen sich auch hier deutlich zwölf zählen. Die großen Centrosomen bestehen wieder aus dem Centroplasma, welches einen hellen Hof mit dem kleinen Centriol einschließt. Es hat also genau den gleichen Bau wie in den Reifungsteilungen. Spindelfasern sind wie auch bei den Reifeteilungen nur außerordentlich schwach angedeutet. Sie gehen jedenfalls aus dem Kernnetz hervor, das ja auch nur schwach ausgebildet ist. Das Centrosom kann sich unmöglich daran beteiligen, da es in den Anaphasen noch genau so

[1]) Nicht zu verwechseln mit R. HERTWIGS qantitativer Kern-Plasmarelation.

groß ist wie im Stadium mit der Äquatorialplatte. Sind die Chromosomen an den beiden Centrosomen angelangt, so beginnt die Bildung des Ruhekernes durch das Übergehen der Chromosomen in Karyomeriten (Fig. 32) in genau der gleichen Weise, wie ich es von den beiden Vorkernen ausführlich geschildert habe. Die Zahl der ganz jungen Karyomeriten beträgt meistens etwa zwölf, doch fand ich auch nur neun und ebenso mehr bis zu 16. Mit zunehmender Größe sinkt ihre Zahl, in großen Furchungszellen meist bis auf ungefähr sechs, in kleineren noch weniger und in ganz kleinen findet sich überhaupt nur ein einziger Nucleolus. Es liegen also genau die gleichen Verhältnisse wie bei *Polystomum* vor. Wenn die Karyomeriten auftreten, beginnt die Durchschnürung der Zelle (Fig. 32). Hervorheben will ich noch das Verhalten der Centrosomen. Wenn die Chromosomen an den Polen angelangt sind, werden die Centren inaktiv. Zuerst hört die Strahlung auf, dann werden sie allmählich vom Rande aus gegen die Mitte zu schwarz. Daß dies mit auf einer Zunahme der Dichtigkeit des Centroplasmas beruht, beweist die Abnahme der Größe (Fig. 32). Eine Centriolenteilung wie vor der ersten Furchung konnte ich nicht noch einmal beobachten, wohl aber soeben erst geteilte kugelige, etwas auseinandergerückte schwarze Centrosomen (Fig. 38). Aus der ersten Furchung gehen zwei fast gleich große Zellen hervor, welche dann ihrerseits Mikromeren abschnüren. Bei *Polystomum* ist schon die erste Furchung ungleich, und konnte Goldschmidt hier wie bei jeder Mikromerenabschnürung die auffälligen Centrosomenunterschiede feststellen. Mit Sicherheit konnte ich Gleiches nicht nachweisen, muß allerdings hervorheben, daß die Centrosomen in den Furchungszellen entsprechend der abnehmenden Größe der Zellen kleiner werden und zudem nur ausnahmsweise schärfer hervortreten.

V. Größe, Gestalt und Anordnung der Chromosomen in Ei- und Furchungszellen.

Das Interessanteste an den Furchungszellen sind die zu beobachtenden Größenunterschiede der Chromosomen. In den Fig. 39—44 habe ich eine Reihe Äquatorialplatten gezeichnet, für deren Auswahl allein der Umstand maßgebend war, daß der Schnitt genau durch die Äquatorialebene geführt war, so daß alle Chromosomen auf einem Schnitt liegen. Da die Chromosomenzahl nicht zu hoch ist, sind solche Bilder geradezu von schematischer Klarheit. Die schönsten Bilder lieferten nun nicht aber etwa Äquatorialplatten der ersten Furchung. Hier sind nämlich trotz der Größe der Zelle die Chromosomen noch nicht so groß, wie in

späteren großen Furchungszellen, die kaum halb so groß wie die Eizellen sind. Dagegen sind in kleineren Furchungszellen die Chromosomen noch immer ziemlich groß, so daß die Äquatorialplatte fast die ganze Breite der Zelle einnimmt (Fig. 44 einer Spermatogonienzelle).

Schon bei der Besprechung der Reifeteilungen und Befruchtung wies ich auf die Größenunterschiede der Chromosomen hin. Ganz die gleichen Unterschiede finden sich bei den Furchungschromosomen. An denselben will ich sie nun eingehender besprechen, denn da die Chromosomen hier am größten sind, sind auch die Differenzen relativ größer. Schon ein flüchtiger Blick lehrt uns, daß die zwölf Chromosomen sechs Paare verschiedener Größe bilden, drei Paare größere und drei Paare kleinere. (Die gleich großen Chromosomen sind auf den Figuren mit gleichen Zahlen bezeichnet.) Am klarsten springen die Unterschiede in die Augen, wenn man die absolute Größe der Chromosomen auf gerade Linien überträgt und diese in eine aufsteigende Reihe anordnet, wie ich es in den Fig. 40*a* und 41*a* getan habe, die die sechs Größenstufen der Chromosomen der Fig. 40 und 41 genau abgemessen darstellen. Wir sehen dabei eine gesetzmäßige Zunahme der Größe, das größte ist etwa fünfmal so groß als das kleinste. Wenn wir nun die Chromosomen des Spermakernes und die Reifechromosomen des Eies betrachten, so finden wir gleichfalls, daß die sechs Stück alle verschieden groß sind, und zwar in der gleichen Weise (Fig. 20, 9*a*, 10*a*, 13). Es ist also wohl zweifellos, daß das doppelte Auftreten jeder Chromosomengröße in den Furchungszellen so zu erklären ist, daß das eine von ihnen vom Eikern, das andre vom Samenkern stammt. Auffallend ist, daß weder bei dem so nahe verwandten *Polystomum*, noch andern Trematoden, ähnliches zur Beobachtung gekommen ist, sonst spielt aber diese Erscheinung in der Literatur eine gewisse Rolle. Größenunterschiede wurden schon vielfach beobachtet. Das klassische Objekt stellen die Wanzen dar. Anhänger der Individualitätslehre der Chromosomen sahen darin eine wichtige Stütze ihrer Hypothese (Boveri u. a.). Dem gegenüber kamen die Gegner, so vor allem Meves und Fick zu der Überzeugung, daß eine wirkliche Gesetzmäßigkeit in den Größenunterschieden sich nicht feststellen ließe.

Fick (1905) glaubt, daß die Größenunterschiede darauf beruhen, daß jedes Chromosom längere Zeit braucht zur vollen regelmäßigen Ausarbeitung seiner typischen Form. Er stützt sich dabei auf die Untersuchungen Lebruns bei der Amphibienreifung und die Arbeiten von Helen King. Auch Vejdovsky glaubt, daß die bei den Reifeteilungen von Enchyträiden auftretenden Unterschiede nur zeitliche, durch ungleiches Wachstum hervorgerufene seien; in den Anaphasen sind alle

Chromosomen wieder gleich lang. Das ist aber bei *Gyrodactylus* nicht der Fall. Es wird einmal schon dadurch bewiesen, daß auf jeder Äquatorialplatte die gleichen Unterschiede in der Größe existieren, daß also eine wirkliche Gesetzmäßigkeit vorliegt; ferner weisen auch die in den frühen Prophasen auftretenden körnigen Chromosomenfäden schon von Anfang an verschiedene Größe auf. Desgleichen geht aus den Anaphasenbildern (Fig. 13, 18 und 31) hervor, daß auch da die Chromosomen noch verschieden groß sind und zwar in genau der gleichen Weise. Meves (1911), ein Gegner der Individualitätslehre, prüfte eine große Anzahl Muttersterne aus verschiedenen Geweben von *Salamandra maculosa*. Größenunterschiede konnte er im Gegensatz zu C. Rabl und Della Valla wohl feststellen, vermochte jedoch keine Gesetzmäßigkeit, geschweige denn eine Anordnung in Paaren zu erkennen. Freilich verlieren die Feststellungen Meves' dadurch an Wert, daß eben *Salamandra* wegen seiner hohen Chromosomenzahl kein sehr günstiges Objekt ist. Zudem sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Chromosomen so gering, daß absolut genaue Resultate überhaupt nicht zu gewinnen sind. Nicht mit Unrecht fragt auch Fick: »ist es wirklich möglich, z. B. bei 22 Chromosomen elf Größenstufen trotz der Möglichkeit der perspektivischen Täuschung usw. sicher zu unterscheiden?« Betreffs der übrigen Literatur sei auf Meves' Arbeit verwiesen. In einer neueren Arbeit erwähnt Krüger (1911) auffallende Größenunterschiede während der Reifeteilungen von *Canthocamptus trispinosus*, zwei Chromosomen waren größer, eines sehr klein, die übrigen acht vermittelnd. Bei *C. staphylinus* sollen dagegen ähnliche Unterschiede nur vorübergehend durch ungleichzeitiges Wachstum bedingt sein. Dagegen finden Foot und Strobell (1912) als Gegner der Individualitätstheorie weder konstante Größen noch Form (bei *Euchistus crassus*).

Was meine Resultate bei *Gyrodactylus* anbelangt, so sind meines Wissens derartig klare Bilder bisher noch nicht bekannt gewesen. Dieser Trematod ist ein hierfür selten günstiges Objekt; die Chromosomenzahl 12 ist noch nicht zu hoch. Auf gut getroffenen Äquatorialplatten liegt jedes Chromosom frei für sich, ohne von seinem Nachbar bedeckt zu werden, so daß Zweifel über die Länge gänzlich ausgeschlossen sind. Zudem läßt sich die Größe leicht genau messen, da die Chromosomen lange gleichmäßig dicke Stäbe darstellen, die höchstens schwach gekrümmt oder an einem Ende hakig umgebogen sind[1]).

[1]) Janicki beschreibt die Chromosomen als »kleine mit Delafields Hämatoxylin sich stark dunkel färbende Körner von rundlicher Gestalt, immer umgeben von einem schmalen, hellen, sich nicht mitfärbenden Hof«. Vermutlich hat er Karyo-

Paarweise Anordnung und das Auftreten der Größenstufen in halber Zahl in den Geschlechtszellen wurde ebenfalls schon vielfach beobachtet. Montgomery (1901) und Schreiner (1906) lassen die Paarlinge nebeneinander liegen. Ein solches Verhalten vermochte ich als gesetzmäßig nicht zu erkennen. Dagegen glaubte ich manchmal Gonomerie feststellen zu können. In einigen Zellen schienen mir nämlich die Chromosomen so angeordnet zu sein, daß sich die Äquatorialplatte durch eine Linie in zwei Hälften teilen läßt, derart, daß auf jeder Seite korrespondierende Chromosomen liegen, z. B. Fig. 41, 44. In zahlreichen Platten läßt sich jedoch eine solche Gruppierung ohne Zwang nicht durchführen. Es scheint also die Anordnung der einzelnen Chromosomen keinem Gesetze zu unterliegen, sondern ganz vom Zufall abzuhängen.

Außer der verschiedenen Größe der Chromosomen spielen auch Formunterschiede eine Rolle. Meves führt die diesbezügliche Literatur in seiner Arbeit auf. Er selbst konnte bei *Salamandra* konstante Formunterschiede nicht feststellen und glaubt mit Baltzer (1908), daß die Gestalt allein von der Zugwirkung der Spindelfasern abhängig ist. Dieser Anschauung von Meves muß ich mich gemäß meinen Befunden an *Gyrodactylus* anschließen. Auf einigen Platten haben allerdings in der Größe einander entsprechende Chromosomen auch gleiche, meist hakenförmige Gestalt. Andre Platten lassen dagegen solche Formen nicht erkennen. Auch können korrespondierende Chromosomen ganz verschiedene Gestalt haben. Die Form ist also etwas durchaus Variables.

Häcker (1907) sucht die Größenunterschiede phylogenetisch zu erklären. Er führt sie auf einen »allmählichen Abbau und eine schließliche Elimination einzelner Chromosomen im Laufe der Phylogenie zurück.« Ebensogut könnte man wohl auch das Entgegengesetzte annehmen; beweisen läßt sich natürlich beides nicht.

Für die Individualitätstheorie sind konstante Größendifferenzen im Grunde nicht beweisender als überhaupt die Konstanz der Chromosomenzahl in jeder Tierart. Wichtiger ist, daß in einem solchen Verhalten, da man sicher mit Recht in den Chromosomen die Träger der Vererbung sieht, auch Qualitätsunterschiede der Chromosomen zum Ausdruck kommen müssen. Nur ist damit die Tatsache der verschiedenen Größe

---

meriten für Chromosomen angesehen. Merkwürdigerweise erwähnt auch Kathariner, der doch schon nach seinen Zeichnungen zu urteilen, wesentlich mehr Material als Janicki untersucht hat, nicht ein Wort von dem Größenunterschied, gibt freilich auch kein einziges Bild, auf welchem die Chromosomen gut zu erkennen wären. Die Fixierung seines Materials scheint wenig günstig gewesen zu sein.

auch noch nicht völlig erklärt: denn bei den meisten Tieren findet sich etwas Derartiges nicht, und dennoch müssen wir annehmen, daß auch deren Chromosomen untereinander von verschiedener Wertigkeit sind.

Zusammenfassung.

Zum Schluß sei noch eine kurze Zusammenfassung der gewonnenen Resultate gegeben.

Zunächst möge das Verhalten der chromatischen Bestandteile nochmals überblickt werden.

1. Ebenso wie Goldschmidt bei *Polystomum* bin ich bei *Gyrodactylus* zu der Überzeugung gekommen, daß die Karyomeriten sämtliches Chromatin der Chromosomen enthalten, aus denen sie durch direktes Aufquellen hervorgehen.

2. Umgekehrt gehen die Chromosomen aus den Karyomeriten hervor. Sie scheinen jedoch nur aus den beiden größten ihren Ursprung zu nehmen, in die durch Teilungs- und Wiederverschmelzungsprozesse vermutlich alles Chromosomenmaterial gesammelt wird. Ähnlich gehen auch aus dem großen Nucleolus des unreifen Eies die Chromosomen hervor. Einen Austritt des Chromatins der Nucleolen in den Kern in Form von feinen Körnchen, wie Janicki und Kathariner angeben, konnte ich nicht beobachten.

3. Die Normalzahl der Chromosomen beträgt zwölf und nicht acht, wie Kathariner und Janicki angeben.

4. In der ersten Reifeteilung ist bereits die reduzierte Zahl der Chromosomen (6) vorhanden. Kathariners Angaben, daß erst durch die zweite Reifeteilung die Reduktion herbeigeführt wird, ist irrtümlich. Die Chromosomen beider Reifeteilungen sind verschieden gestaltet. In der ersten finden sich neben f- und hantelförmigen Figuren ringartige Doppelstäbchen. In der zweiten nur einfache Stäbchen.

5. Das Spermatozoon dringt während der Ausbildung der Chromosomen ein. Es zerfällt bald darnach der Kopf in seine sechs Chromosomen.

6. Die Chromosomen zeigen sehr auffallende konstante Größenunterschiede; und zwar finden sich in den Reifeteilungen und in dem Spermakern stets drei größere und drei kleinere; in den Furchungszellen treten diese Größen in gleicher Weise, aber in doppelter Zahl auf, so daß man in der Tat noch männliche und weibliche Chromosomen vor sich hat. Doch zeigen die Paare keine irgendwie beschaffene konstante Anordnung. Konstante Formunterschiede sind ebenfalls nicht nachzuweisen.

Daran anschließend sei noch einmal kurz das Bemerkenswerteste über die achromatischen Strukturen erwähnt.

1. Entsprechend den Veränderungen im Kern machen die Centrosomen ganz gesetzmäßige Umwandlungen durch. Im ruhenden Kern sind sie als schwarze Kugeln ohne Strahlung vorhanden, gleichzeitig mit der Ausbildung der Chromosomen beginnen sie sich aufzulockern und von der Mitte aus heller zu werden. Es entsteht schließlich außen eine homogene Schicht von Centroplasma, die im Innern einen excentrisch liegenden Hof mit einem kleinen Centriol umschließt. Nach Erreichung dieses Stadiums ist eine kräftige Strahlung vorhanden, unter deren Einfluß die Auflösung der Kernmembran erfolgt. Die Centrosomen behalten während der Meta- und Anaphasen ihre volle Größe bei, um während der Ausbildung der Tochterkerne die umgekehrten Umwandlungsprozesse durchzumachen. Die Strahlung erlischt allmählich, die Centrosomen werden wieder kleiner, indem ihr Centroplasma dichter wird. Sie fangen nun wieder an, vom Rande aus schwarz zu werden. Noch bevor die Karyomeriten ihre volle Größe erreicht haben, erfolgt die Teilung des Centriols, worauf sich auch das ganze elliptische Centrosom teilt. Nunmehr rücken die Teilstücke als zwei völlig schwarze Kugeln an entgegengesetzte Pole der Zelle, wo sie fern von der Kernmembran im Plasma liegen.

2. Die Centrosomen sind also beständig in der Zelle nachzuweisen, und zwar bleibt nicht nur das Centriol erhalten, sondern auch das Centroplasma, so daß *Gyrodactylus* ein echtes Centrosom im Sinne Boveris besitzt.

3. In der ersten Reifespindel tritt eine auffallende Differenz in der Größe der beiden Centrosomen auf. Das am Eipol liegende ist etwa doppelt so groß als das am Richtungspol befindliche.

4. Die zweite Reifeteilung ist asymmetrisch. Sie besitzt nur das große Eicentrosom.

5. Die beiden Reifespindeln erstrecken sich durchs ganze Ei.

6. Spindelfasern sind in den Reife-, wie Furchungsspindeln nur schwach angedeutet, sie nehmen sicher nicht aus dem Centrosom bzw. Centroplasma ihren Ursprung.

7. Weder ein Spermacentrosom noch eine Spermastrahlung sind vorhanden.

8. Die Centrosomen der ersten Furchungsspindel nehmen aus dem großen Eicentrosom ihren Ursprung. Sie entstehen aus demselben auf die gleiche Art, wie in allen Furchungszellen die Centrosomen des nächsten Teilungsschrittes aus dem alten Centrosom hervorgehen (s. unter 1.).

Literaturverzeichnis.

Bambecke, v. 1898. Recherches sur l'ovocyte du Pholcus phalangoides. Arch. de Biologie.

Böhmig. 1898. Beiträge zur Histologie und Anatomie. d. Nemertinen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXIV.

Born, G. 1894. Die Struktur d. Keimbläschens im Ovarialei von Triton taeniatus. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIII.

Boveri, Th. 1888. Zellstudien. Hft. I u. II.

—— 1890. Zellstudien. Hft. III.

—— 1900. Zellstudien. Hft. IV.

—— 1904. Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. Jena 1904.

Bresslau, A. 1904. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte d. Turbellarien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXVI.

Buchner, P. 1911. Die Reifung des Seeigeleies b. experimenteller Parthenogenese. Arch. f. Zellf. Bd. VI.

Bütschli, O. 1876. Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilung und die Konjugation d. Infusorien. Abh. d. Senckenb. Naturf. Ges. Bd. X.

Carnoy et Lebrun. 1897—1903. La Cytodiérèse de l'œuf. La Cellule. T. XII, XIV, XVI, XVII.

Fick, R. 1899. Über die Eireifung der Amphibien. Verh. d. Nat. Ges. Tübingen.

—— 1905. Chromosomen, ihre Individualität, Reduktion u. Vererbung. Arch. f. Anat. u. Physiol. (Anat. Abt.) Suppl. 1905.

Fol, H. 1891. Le Quadrille des Centres. Arch. des sc. Phys. et Nat. T. XXV.

Foot, K. and Strobell, A. C. 1912. A Study of Chromosomes and Chromatin Nucleoli in Euchistus crassus. Arch. f. Zellf. Bd. IX.

Francotte, P. Recherches sur la maturation, la fécondation et la segmentation chez les Polyclades. Arch. d. Zoolog. T. VI. III. Série. 1898 und Mém. Cour. Acad. Belg. T. LV. 1897.

Goldschmidt, R. 1902. Untersuchungen über die Eireifung, Befruchtung u. Zellteilung b. Polystomum integerrimum. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXI.

—— 1905. Reifung, Befruchtung u. Embryonalentwicklung d. Zoogonus mirus. Zoolog. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog. d. Tiere. Bd. XXI.

—— 1908. Über das Verhalten des Chromatins b. d. Eireifung u. Befruchtung d. Dicrocoelium lanceolatum. Arch. f. Zellf. Bd. I.

Günther, K. 1904. Über d. Nucleolus im reifen Echinodermenei und seine Bedeutung. Zool. Jahrbücher, Abt. f. Anat. Bd. XIX.

Gurwitsch, 1904. Morphologie u. Biologie d. Zelle.

Haecker, Val. 1899. Praxis u. Theorie der Zellen- u. Befruchtungslehre. Jena.

—— 1902. Über die Autonomie der väterlichen u. mütterlichen Kernsubstanz vom Ei bis zu den Fortpflanzungszellen. Anat. Anz. Bd. XX.

—— 1909. Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. Ergebn. u. Fortschr. d. Zoolog. Bd. I.

Halkin, H. 1902. Recherches sur la maturation, la fécondation et le développement du Polystomum integerrimum. Arch. de Biol. T. XVIII.

Hartmann, M. 1902. Studien am tierischen Ei. I. Ovarialei und Eireifung von Asterias glacialis. Zoolog. Jahrb., Abt. f. Anat. Bd. XV.

Henneguy, L. F. 1902. Sur la formation de l'œuf, la maturation et la fécondation de l'ovocyte chez le Distomum hepaticum. C. R. Acad. Sc. (Paris). T. CXXXIV.

Hertwig, R. 1898. Kernteilung, Richtungskörperbildung u. Befruchtung v. Aktinosphaerium. Abh. k. bayr. Akad. d. Wiss. Bd. XIX.

—— 1898. Über die Bedeutung der Nucleolen. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München. Bd. XIV.

v. Janicki, C. 1903. Beziehungen zwischen Chromatin u. Nucleolen während d. Furchung d. Eies v. Gyrodactylus. Zool. Anz. Bd. XXVI.

Jörgensen, M. 1908. Untersuchungen über die Eibildung b. Nephelis. Arch. f. Zellf. Bd. II.

—— 1913. Zellenstudien I—III. Arch. f. Zellf. Bd. X.

Kathariner, L. 1893. Die Gattung Gyrodactylus v. Nordm. Arb. Zool.-zoot. Inst. Würzburg. Bd X.

—— 1904. Über die Entwicklung von Gyrodactylus elegans v. Nordm. Zool. Jahrb. Suppl. VII. (Festschrift f. Weismann).

Kostanecki, K. 1904. Cytolog. Studien an künstlich parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von Mactra. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXIV.

—— 1906. Über die Herkunft d. Teilungscentren der ersten Furchungsspindel im befruchteten Ei. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVIII.

Korschelt, E. 1895. Über Kernteilung, Eireifung u. Befruchtung b. Ophryotrocha puerilis. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LX.

Korschelt u. Heider, 1913. Lehrbuch d. vergl. Entwicklungsgeschichte d. wirbellosen Tiere; allgemeiner Teil.

Krüger, P. 1911. Beiträge zur Kenntnis d. Oogenese bei Harpacticiden nebst biolog. Betrachtungen. Arch. f. Zellf. Bd. VI.

Lillie, F. R. 1898. Centrosome and sphere in the egg of Unio. Zool. Bull. Vol. I.

—— 1912. Studies of fertilization in Nereis III., IV. Journ. of experimental Zoology. Vol. XII.

Lubosch, W. 1902. Über die Eireifung der Metazoen etc. Ergebn. d. Anat. u. Entwickl. Bd. XI.

Mattiesen, E. 1904. Ein Beitrag zur Embryologie d. Süßwasserdendrocoelen. Zeitschrift f. wiss. Zool. Bd. LXXVII.

Meves, F. 1911. Über die Chromosomenlängen b. Salamandra maculosa nebst Betrachtungen zur Individualitätsfrage. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXVII.

Montgomery, Thos. H. 1899. Comparative Cytological Studies, with Especial Regard to the Morphology of the Nucleolus. Journ. of Morphol. Vol. XV.

—— 1901. A study of the chromosomes of the germ cells of Metazoa. Transact. Amer. Philos. Soc. Vol. XX.

Nachtsheim, H. 1913. Cytologische Studien über die Geschlechtsbestimmung bei d. Honigbiene. Arch. f. Zellf. Bd. XI.

Rückert, J. 1892. Zur Entwicklungsgeschichte des Ovarialeies d. Selachier. Anat. Anzeiger. Bd. VII.

Schockaert, R. 1905. La fécondation et la segmentation chez le Thysanozoon Brochii. La Cellule. T. XXII.

SCHUBMANN, 1905. Über die Eibildung u. Embryonalentwicklung von Fasciola hepatica. Zool. Jahrb. (Anat.) Bd. XXI.

VEJDOVSKY, F. 1907. Neue Untersuchungen über die Reifung u. Befruchtung. Prag 1907.

WAGENER, G. 1860. Über Gyrodactylus elegans v. Nordm. Arch. f. Anat. u. Physiol.

WHEELER, W. M. 1895. The Behavior of the Centrosomes in the Fertilized Egg of Myzostoma glabrum. Journ. of Morph. Vol. X.

—— 1897. The maturation, fecondation etc. of Myzostoma glabrum. Arch. d. Biolog. T. XV.

WILSON, ED. 1901. Experimental studies in cytology. Ia. II. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. XII, XIII.

ZELLER, E. 1872. Untersuchungen über d. Entwicklung u. d. Bau d. Polystomum integerrimum. Zeitschr. f. wiss. Zoolog. Bd. XXII.

Erklärung der Abbildungen.

Sämtliche Figuren wurden mit dem ABBEschen Zeichenapparat auf Objekttischhöhe bei ZEISS homog. Immers. Apochrom 2 mm und Compensations-Oc. 12 gezeichnet, nur die Fig. 9*a*, 10*a*, 20 und 44 mit Oc. 18. *c* = Centrosom; *nz* = Nährzellen; *rk* = Richtungskörper.

Tafel XXXII.

Fig. 1. Unreifes Ei mit einer kleinen und großen Nährzelle. Kern pseudopodienartig gelappt. Centrosom schwarz, nur 1 getroffen.

Fig. 2. Unreifes Ei. Lappung wird schwächer, oberes Centrosom von der Mitte aus hell werdend.

Fig. 3. Unreifes Ei. Oberes Centrosom nur noch mit dunklerer Rindenschicht. Innen mit schwachem Centriol. Nucleolus nicht mehr intensiv schwarz, mehr körnig gefärbt.

Fig. 4. Unreifes Ei. Im Nucleolus wird ein wirr durcheinander geschlungener chromatischer Faden sichtbar.

Fig. 5. Unreifes Ei. Lampenbürstenchromosomen innerhalb des Nucleolus.

Fig. 6. Unreifes Ei. Sehr feinkörnige Chromosomenfäden im achromatischen Nucleolus, 1 herauswandernd, einige bereits im Kernnetz. Centrosom beginnt zu strahlen.

Fig. 7. Unreifes Ei. Fast fertige Chromosomen ausgebildet. Centrosom kräftig strahlend. Spermatozoon ins Ei eingedrungen. Nucleolus nur skizziert.

Fig. 7*a*. Nucleolus des Eies von Fig. 7. Deutliches Chromosom aus ihm herauskommend.

Fig. 8. Übertritt des Eies aus dem Ootyp in den Uterus (*u*). Sehr schönes Kernnetz.

Fig. 9. Erste Reifeteilung, Äquatorialplatte. Centrosomenunterschied. Spermakern mit Chromosomen.

Fig. 9*a*. Chromosomen von Fig. 9 stärker vergrößert.

Fig. 10. Erste Reifeteilung wie Fig. 9.

Fig. 10*a*. Chromosomen von Fig. 10 stärker vergrößert.

Fig. 11. Erste Reifeteilung wie Fig. 9 und 10.

Fig. 12. Erste Reifeteilung: Abschnürung des Richtungskörpers.

Fig. 13. Zwischen erster und zweiter Reifeteilung mit erstem Richtungskörper. Spermakern mit Chromosom. Centrosom nicht strahlend.

Tafel XXXIII.

Fig. 14. Beginn der zweiten Reifeteilung. ♂ Vorkern. Erster Richtungskörper.

Fig. 15. Dasselbe. Centrosom wieder strahlend.

Fig. 16. Zweite Reifeteilung. Anaphase.

Fig. 17. Dasselbe.

Fig. 18. Dasselbe.

Fig. 19. Zweite Reifeteilung, Telophase. Drei Richtungskörper.

Fig. 20. Spermakern stärker vergrößert.

Fig. 21. Reifes Ei. Beide Vorkerne in Karyomeritenbildung. Unregelmäßige Form, körnige Färbung der Karyomeriten. Rindenschicht des Eicentrosoms dunkler werdend.

Fig. 22. Reifes Ei. Etwas älter, Zahl der Karyomeriten nimmt zu. Männlicher Vorkern rückt gegen den weiblichen.

Fig. 23. Noch älter.

Fig. 24. Reifes Ei. Beide Vorkerne liegen nebeneinander, nur ungefähr noch zu trennen. Eicentrosom noch immer vorhanden. Karyomeriten homogener werdend.

Fig. 25. Reifes Ei kurz nach der Vereinigung der Vorkerne. Teilung des Centriols innerhalb des alten Eicentrosoms. Zahl der Karyomeriten wieder auf zwölf herabgemindert. Tiefschwarz. Kugelig werdend.

Fig. 26. Etwas älterer Furchungskern des reifen Eies. Centrosom geteilt als schwarze Kugel auseinanderrückend. Alle Karyomeriten kugelig, homogen gefärbt. Ei, das abnormalerweise doppelt befruchtet.

Fig. 27. Reifes Ei. Verschmelzung zweier Karyomeriten.

Tafel XXXIV.

Fig. 28. Reifes Ei. Die größten Karyomeriten beginnen Auflösung. Chromatinfärbung weicht zurück. Starke Vacuolisierung.

Fig. 29. Reifes Ei. Dasselbe.

Fig. 30. Reifes Ei. Fast fertige Chromosomen der ersten Furchung gegen das mächtig angewachsene strahlende Centrosom gerichtet. Ein noch unaufgelöster Karyomerit.

Fig. 31. Anaphase der ersten Furchung. Größenunterschiede der Chromosomen.

Fig. 32. Telophasen der ersten Furchung. Centrosomen schwarz werdend. Karyomeriten.

Fig. 33. Furchungszelle. In großen farblosen Karyomeriten feiner Chromatinfaden.

Fig. 34. Furchungszelle. Ein Chromosom aus dem großen achromatisch gewordenen Karyomeriten herauskommend. Andre schon im Kernnetz neben noch unaufgelösten Karyomeriten.

Fig. 35 u. 36. Zwei aufeinanderfolgende Schnitte einer Furchungszelle. Alle Chromosomen ausgebildet. Das letzte kommt aus dem großen achromatisch gewordenen Karyomeriten heraus.

Die andern sind mehr oder weniger gegen die Karyomeriten zu gerichtet, ohne jedoch sie zu berühren. Die in der Mitte befindlichen Karyomeriten nur skizziert, liegen unter den Chromosomen.

Fig. 37. Furchungszelle. Chromosomen gegen das strahlende Centrosom gerichtet.

Fig. 38. Zwei-Zellenstadien. Rechte Zelle mit soeben geteiltem Centrosom; links die Teilstücke bereits weiter auseinandergerückt.

Fig. 39. Erste Furchung. Äquatorialplatte.

Fig. 40. Äquatorialplatte aus einer Furchungszelle. Gleich große Chromosomen mit gleichen Zahlen bezeichnet.

Fig. 41. Dasselbe.

Fig. 42. Dasselbe.

Fig. 43. Dasselbe.

Fig. 44. Äquatorialplatte einer Spermatogonie.

Fig. 40*a* u. 41*a*. Chromosomenlängen der Fig. 40 und 41 durch gerade Linien ausgedrückt.





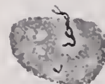
1.



2.



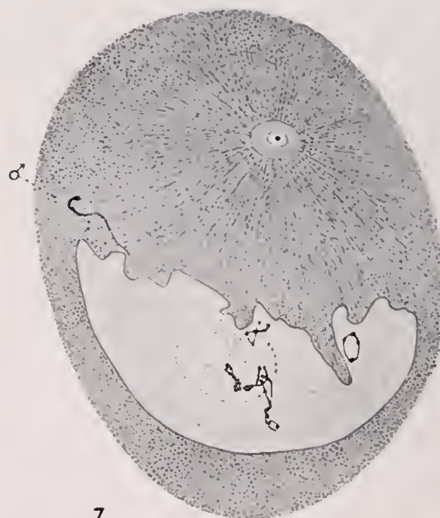
3.



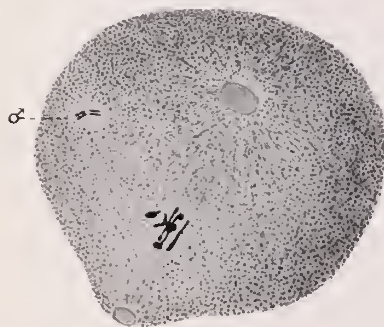
7a.



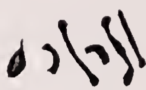
6.



7.



10.



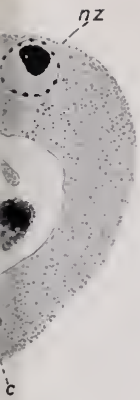
10a.

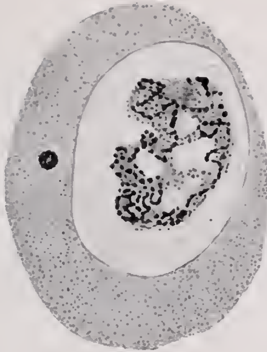


11.

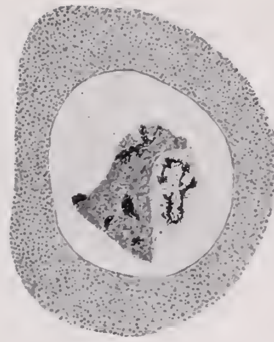
Gille

Verlag von Wilhelm Engm



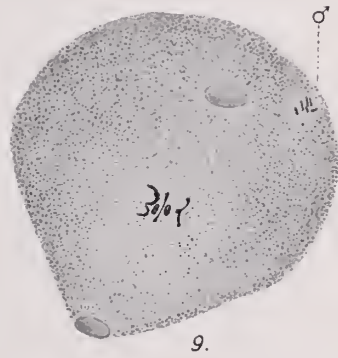


4.



5.



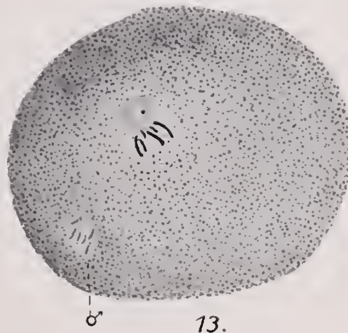


9.

9a.



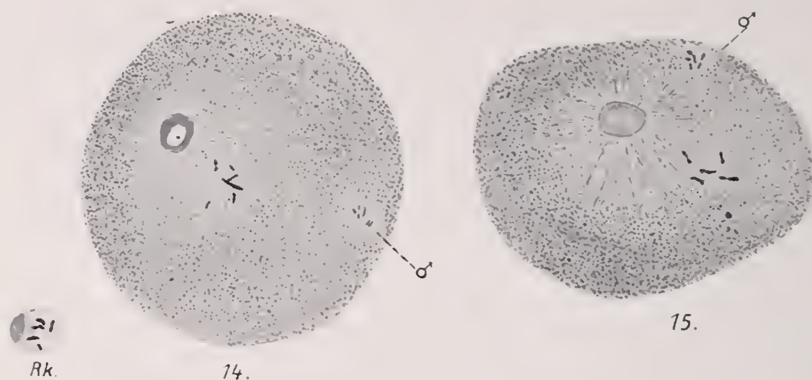
12.



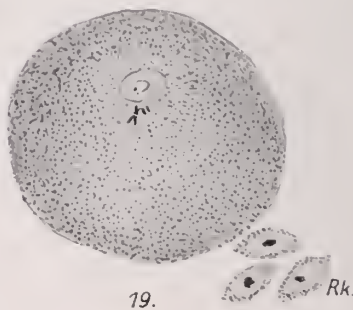
13.

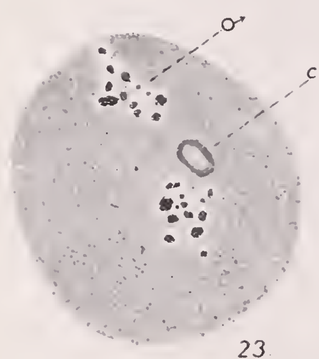


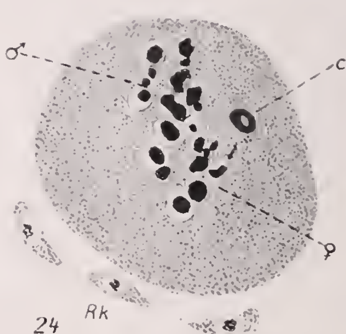
ann in Leipzig und Berlin.


♀
♂
Rk.
14.
15.

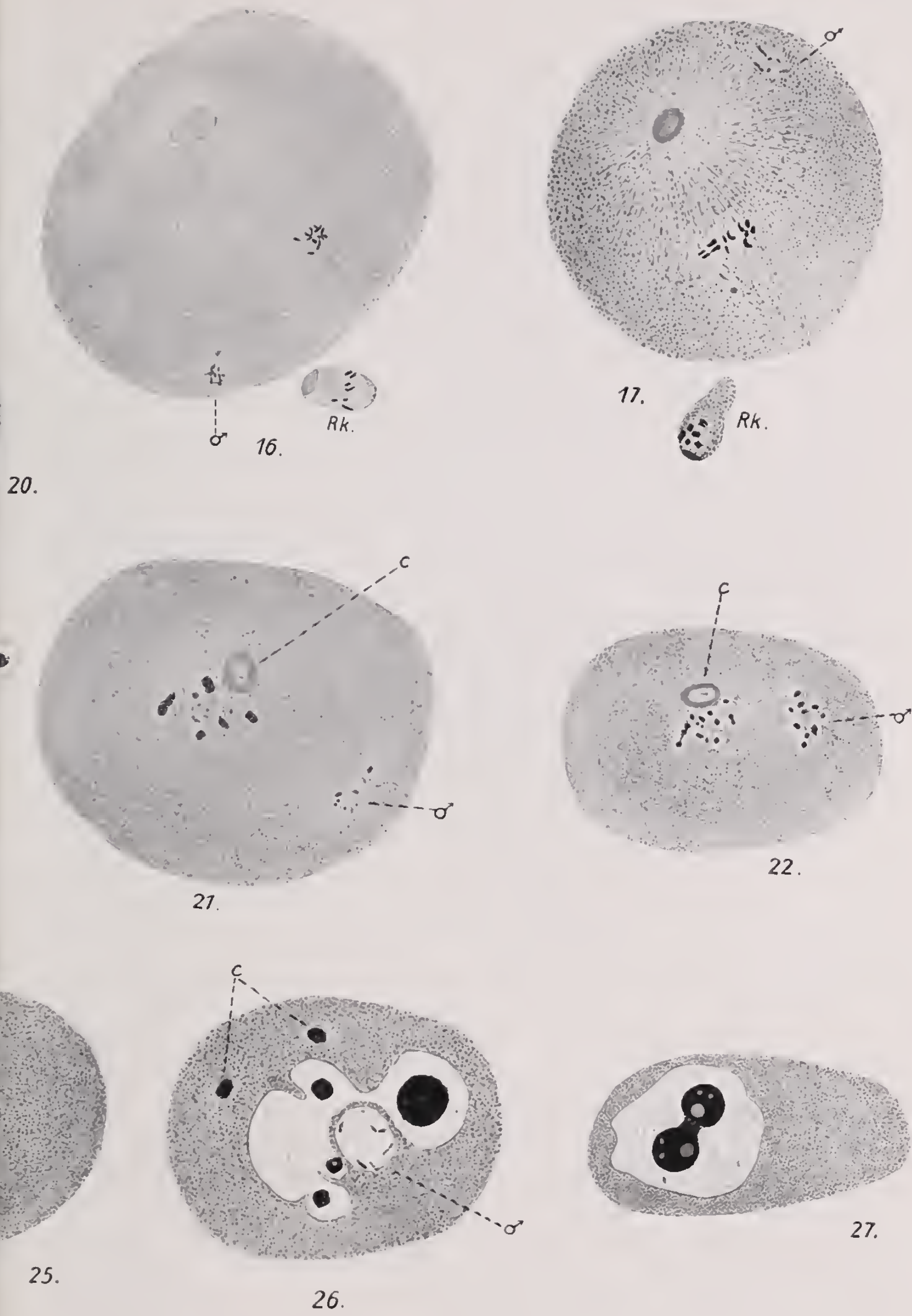

Rk.
18.


19.
Rk.

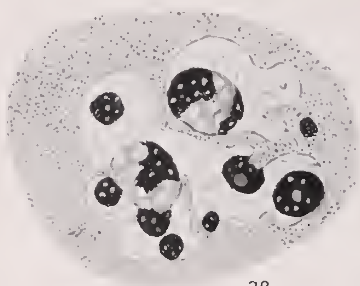

♂
c
23.


♂
c
♀
Rk
24

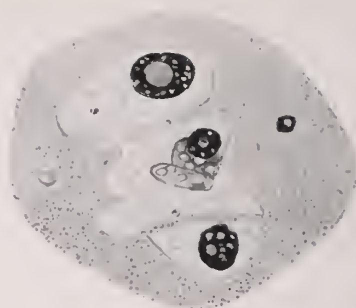

c



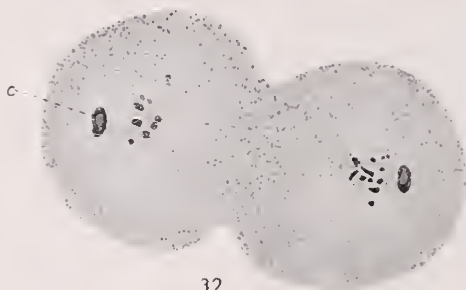
♂
Rk.
16.
20.
17.
c
♂
21.
22.
25.
26.
27.



28.



29



32.



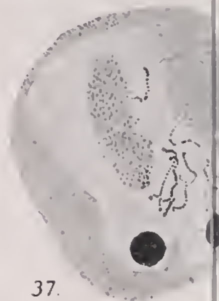
33



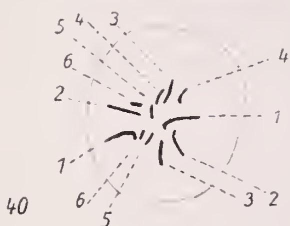
35



36

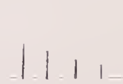


37.



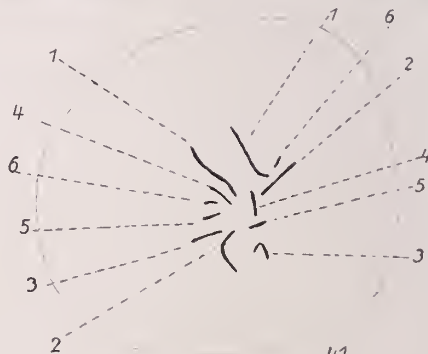
40





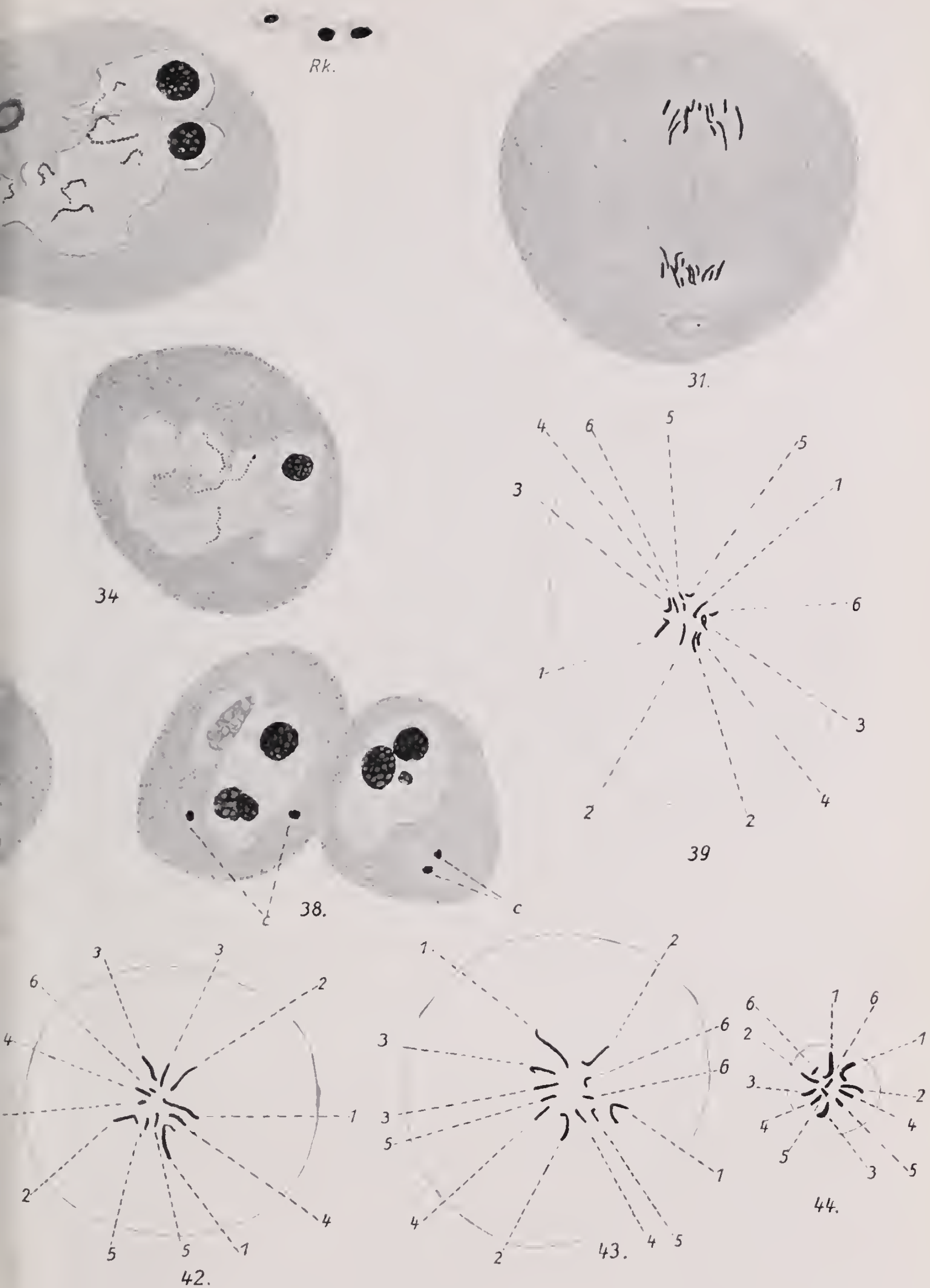
40a

41a



41.

Verlag von Wilhelm En[gelmann]


Rk.
31.
34
38.
c
39
42.
43.
44.

Ricerche sulla fine struttura dell' epidermide umana normale in rapporto alla sua funzione eleidocheratinica.

Nota I. Il corpo malpighiano e la produzione fibrillare dell' epidermide.

Del

Dott. Leonardo Martinotti,
(Aiuto e libero docente)

(Clinica dermatologica della R. Università di Modena,
Direttore Prof. P. Colombini.)

Con tavola XXXV.

I.

In precedenti comunicazioni[1]) ho esposto i risultati di miei studi intesi a riconoscere la fine struttura dell' epidermide umana in relazione specialmente alla sua funzione cornea normale.

Ho dato colà anche un dettagliato elenco dei metodi, delle numerose sostanze coloranti adoperate, e dei nuovi procedimenti tecnici proposti. Non starò qui a ripetermi per ciò che riguarda questa parte dei miei studi, mi limiterò solo a esporre nei singoli capitoli la tecnica usata.

In questo mio lavoro mi sono prefisso soprattutto di studiare il fenomeno della corneificazione quale esso si effettua nella cute umana normale. A tale uopo in una prima serie di ricerche mi sono servito di materiale freschissimo, ancora caldo, tolto da operazioni chirurgiche e gentilmente fornitomi da colleghi, e specialmente di polpastrelli di dita delle mani e dei piedi. Essi venivano fissati in formolo al 10% (Formalina Schering cc. 10, acqua destillata cc. 90) per 3—6 giorni e poi eventualmente conservati in formolo al 4% oppure in alcool a 60°—80°.

---

[1]) Martinotti, Seduta del 21. Giugno 1913 della Società Medica di Modena. — XV. Riunione della Soc. Dermatologica italiana. Roma, Dicembre 1913. [Anat. Anzeiger 1914.]

In una seconda serie ho provato sempre sulle stesse regioni della cute, l'azione di altri fissativi e dei diversi metodi di inclusione.

In una terza, avendo potuto disporre di altro materiale e specialmente del cadavere (subito dopo la morte) di un giovane uomo di 20 anni deceduto per meningite cerebrospinale, ho esteso questi miei studi alle varie regioni della cute umana, ed anche ai peli e alle unghie. Altrettanto ho fatto in cadavere di giovane donna.

Non ho praticato estese ricerche nella pelle di persone di diversa età, non essendomi finora occorso materiale adatto allo scopo.

Andrò esponendo, in memorie successive, i risultati delle mie ricerche intorno alla funzione fibrillare, alla funzione cheratojalinica, alla eleidinica e cheratinica. Descriverò quanto ho potuto constatare sotto questo riguardo a carico dei peli e delle unghie, e finalmente prenderò in considerazione il processo della corneificazione umana dal punto di vista biochimico.

A scanso di inesattezze debbo avvertire che, quando nulla è detto in contrario, tutte le ricerche sono state eseguite sopra sezioni libere, fatte al congelatore, di pezzi fissati in formolo, che dopo esser state sottoposte ai vari trattamenti venivano passate in alcool assoluto, benzolo, xilolo[1]), balsamo del Canadà neutro di Grübler.

II.

Spetta al Malpighi (1628—1694) il merito di per aver primo dato un' esatta descrizione della cute umana, di cui egli distinse l'epidermide e il derma (al quale assegnò il pannicolo adiposo); suddivise il primo in due zone: la cuticola (cioè lo strato corneo) che egli descrisse come un complesso lamellare, e il corpo mucoso, de cui vide esattamente la conformazione e la struttura nei suoi rapporti col corpo papillare, fatto come una membrana pertugiata a modo di reticolo (donde il nome datogli di rete mucosa).

Della pelle si occuparono anche il Leeuwenhoeck, il Fontana, il Purkinje.

Più tardi il Gaultier ammise l' esistenza di una membrana chiara, trasparente, posta fra le due zone descritte da Malpighi e la chiamò pellucida superficiale.

---

[1]) È mio uso passare le sezioni dell'alcool in benzolo, perchè questo si scioglie anche a volumi eguali in alcool a 90°: è necessario però usare Benzolo purissimo cristallizzabile di Merck.

In appresso il Dutrochet, vi aggiunse la pellucida profonda, e chiamò strato colorato il corpo di Malpighi.

La distinzione di Malpighi in corpo mucoso e strato corneo è stata da ultimo definitivamente sanzionata da tutti gli studi degli istologi e dei dermatologi moderni, e da molti anche oggi si ammette che in molte regioni della pelle sia la sola distinzione possibile. Forse ciò non è perfettamente esatto, ma in qualunque modo è indubitato che essi costituiscono i due strati più appariscenti e più costanti della cute umana.

Mertsching e Kaposi dividono l' epidermide in corpo mucoso, strato lucido e strato corneo, ma la divisione non è più seguita.

Unna distingue lo strato spinoso, il granuloso e il corneo; questa classificazione però come la prima è incompleta perchè mette in secondo ordine lo strato lucido che, come vedremo, esiste costantemente.

È più logico di seguire le distinzioni fatte dagli autori moderni comprendenti come strati fondamentali il corpo malpighiano, il granuloso, il lucido, il corneo (Ranvier, Darier, Branca, Ehrmann e Fick, Majocchi, Mibelli, Kromayer ecc.).

Nel corpo Malpighiano, o corpo mucoso, o reticolo del Malpighi, vanno prese in considerazione due zone: la zona basale, e quella filamentosa.

Lo strato basale (Str. germinativo di Ranvier, Robin), zona generatrice (Remy, Kölliker), assise basilaire (Branca), str. cilindrico, ecc., è costituito di cellule i cui caratteri fondamentali sono dati da un nucleo grande, ovale, o rotondo, ricco di cromatina, fortemente colorabile, spesso in atto di scindersi per cariocinesi, e da un corpo cellulare di forma cubica o cilindrica, col grande asse diretto perpendicolarmente alla superficie della cute. Questi elementi, compressi gli uni contro gli altri, per lo più disposto in un solo, di rado in più strati, hanno essenzialmente per ufficio di riprodurre gli elementi cellulari che nell' evolvere successivo delle loro funzioni vanno continuamente perduti.

Lo strato filamentoso, o str. spinoso, o corpo di Malpighi propr. detto, rappresenta un prodotto di ulteriore evoluzione dello str. basale, col quale si continua insensibilmente. Esso comincia a presentare prestissimo e soprattutto in certe regioni, i primi prodotti dell' attività chimica specifica delle cellule epidermiche.

Pare che il Weber sia stato il primo a intravvedere delle formazioni negli elementi di un epitelioma che egli paragonò a delle ciglia vibratili. Schrön nel 1864 chiamò poro-canali, dei prolungamenti che riunivano tra loro le varie cellule e che egli interpretò come canalicoli adibiti alla circolazione della linfa nella cute. Schultze ritenne che le stesse for-

mazioni fossero appendici che si toccassero tra di loro come i denti di ruote dentate: Ranvier (1879), le descrisse come »Spine« delle cellule epiteliali che potevano essere seguite nell' interno del corpo cellulare: Bizzozero infine (1883) le considerò come ciglia emananti dalla membrana cellulare, che si univano tra loro direttamente (quelle di una cellula con quelle di un' altra) con un contatto diretto per mezzo di un piccolo nodo. Gli spazi interciliari dovevano invece servire alla circolazione linfatica; spazi che secondo Axel Key e Retzius erano suscettibili di essere iniettati.

Colomiatti, Lott, Majocchi, confermarono il concetto di Bizzozero, solo il Lott ammise che l'unione avvenisse per un contatto laterale. Ranvier ulteriormente completò tali studi e sostenne che gli elementi dello strato spinoso dovevano paragonarsi alle cellule della nevroglia, e che i filamenti di unione (come egli li chiama) rappresentavano formazioni elastiche. Vide che le cellule del corpo mucoso erano attraversate da fini fibrille che poi si continuavano nei ponti intercellulari. Cajal sostenne che vi era un nesso tra la fibrillazione dell' epidermide malpighiana e il processo di corneificazione.

Dopo gli studi del Bizzozero e di Ranvier la struttura fibrillare del corpo malpighiano fu definitivamente fissata e le richerche ulteriori non fecero che ampliare e completare i dati fondamentalmente stabiliti dai due autori.

Ed io rammenterò a questo proposito le ricerche di Blaschko, Kromayer, Kölliker, Herxheimer, Benecke, Reinke, v. der Stricht, Rabl, Schultz, Unna, Eddowes, Ehrmann, Locatelli, Migliorini, Pasini, Schridde, Biach, Thompson, Rosenstadt, ecc.

Dal complesso di tutti questi studi è risultata una conoscenza quasi completa della struttura delle cellule epidermiche del corpo malpighiano, le quali dai tedeschi, per la loro forma particolare, sono state anche dette cellule alate. Esse sono descritte come elementi grandi, con un nucleo voluminoso, rotondo, chiaro (a doppio contorno) munito di uno o due nucleoli. Tutto attorno è stato osservato uno spazio chiaro in immediato rapporto col nucleo (endoplasma di alcuni autori) e più esternamente una zona più scura protoplasmatica (esoplasma). In questa per l'appunto si manifesta evidentissima la produzione di particolari formazioni fibrillari e più specialmente in quelle regioni della cute nelle quali la strato filamentoso è più spesso (regioni volare e plantare in genere e parti limitrofe). Sull' esistenza di queste fibrille (tonofibrille di alcuni autori) non vi è più discussione, ma se ne discute invece la natura, l'origine, i rapporti reciproci, la funzione.

Benecke, Schütz, Renaut ritengono che le fibrille esistano solo nella parte più periferica del protoplasma (filamenti esoplastici di Benecke).

Unna distingue una zona endoplasmatica perinucleare molto cromofila ed una esoplasmatica, assai meno colorabile, a cui assegna il significato di una membrana: questa membrana non si osserva nello strato basale, dove al suo posto si trovano gli spazi linfatici di Key e Retzius ma si forma negli strati superiori.

La maggioranza degli autori ritiene che tutto il corpo protoplasmatico sia attraversato dalle fibrille, le quali disposte in senso parallelo, o raggiato, si intersecano in vari sensi formando un reticolato che riempie tutto il corpo cellulare e che si dispone nella cute umana normale con una certa regolarità.

Uscendo dal protoplasma le fibrille si continuano coi così detti ponti intercellulari (Kölliker, Darier, Kromayer, Pianese, Rabl, Ramon y Cajal, Ranvier, Unna, Weidenreich) che si osservano fra cellula e cellula.

Qui però vi è discussione: mentre questi ponti furono interpretati come prodotti di sostanza interfibrillare da Ranvier, furono invece considerati come provenienti dalla membrana cellulare da Cajal, da Kromayer e da Manille; e Kölliker li ritenne originati dal protoplasma.

All' incirca verso la metà di questi ponti intercellulari si osserva una specie di rigonfiamento, di punto nodale, che è stato descritto da Ranvier e da questo considerato come un ispessimento, prodotto dalla retrazione dei filamenti di unione, che sarebbero di natura elastica. Bizzozero condivide tale parere.

Manille, Reinke, Weidenreich li considerano come gli omologhi dei corpuscoli che si osservano nelle fibrille vegetali, cioè dei dermatosomi.

L'opinione di Ranvier e Bizzozero, ammessa da numerosi autori, sembrerebbe essere contraddetta dal reperto di Polverini, che avrebbe visto questi rigonfiamenti conservati nell' edema dove le cellule sono allontanate l'una dall'altra. Contro a tale reperto sta a sua volta quello di Nussbaum che, nelle medesime condizioni, li avrebbe invece veduti scomparire; nonchè di Cajal, Kolossow, Weidenreich, che avrebbero notato il formarsi di veri e propri rigonfiamenti allungati, fusiformi.

Rosenstadt nega l'esistenza di nodi; essi sarebbero una pura parvenza e corrisponderebbero ai punti di intersecamento delle fibrille sezionate.

Rabl e dopo di lui Reinke ammisero che appartenessero a una membrana ravvolgente le cellule epiteliali, e i loro punti di unione formassero

precisamente una linea ininterrotta che da un lato dava saldezza al sistema fibrillare, dall' altro veniva di per se stessa a costituire la membrana. A riprova della sua opinione fece osservare come col procedimento della digestione. gli elementi più alti dello strato filamentoso lasciano apparire un involucro al pari delle cellule cornee.

Unna e Studnicka, ammisero essi pure l'esistenza di una membrana, che per l'appunto sarebbe data da un ispessimento della sostanza protoplasmatica pericellulare.

Per Ida Manille (1888) sarebbero le fibrille stesse che darebbero un denso reticolo, d'aspetto membranoso, e la formazione nodulare altro non sarebbe se non il complesso dei nodi del reticolo da cui partono le fibrille che si portano nella cellula adiacente.

Anche Cajal ammette l'esistenza della membrana, e sostiene che i filamenti siano costituiti da due guaine concentriche, di cui una proverebbe dalla membrana stessa. Secondo tale autore le fibrille epiteliali sarebbero propaggini endocellulari della membrana.

Fra cellula e cellula, e attraversati dai filamenti di unione, esistono speciali spazi intercellulari che furono variamente interpretati.

Renaut sostenne che essi contengono del cemento che si raccoglie in forma di perle rifrangenti attraversate dai ponti di unione.

Parimenti Retterer attribuì loro il valore di una sostanza intercellulare incolora (jaloplasma), che sarebbe attraversata dai ponti intercellulari.

Ranvier, Flemming, Cohn, Branca attribuiscono invece il significato di spazi linfatici intercellulari nei quali circolerebbe la linfa epiteliale di Flemming. Ciò è appoggiato dal reperto molte volte notato di globuli rossi e bianchi in seno ad essi e dagli esperimenti di Key e Retzius che avrebbero potuto riempirli con iniezioni, come i vasi linfatici.

Si studiarono pure le forme, il decorso, i rapporti reciproci delle fibrille epiteliali. Già Ranvier ed Unna avevano fatta distinzione fra le fibrille corte e quelle lunghe, e Unna aveva potuto constatare anche delle fibrille giganti.

Rosenstadt ha fatto sistematicamente sezioni trasversali (o fronalti), sagittali e parallele alla superficie cutanea e in tutte ha sempre trovato le stesse configurazioni fibrillari. Fasci di fibrille disposti in senso longitudinale col maggior asse delle cellule. In base a ciò egli distingue tre categorie principali di fibrille (a cui vanno poi aggiunte tutte le forme di transizione):

1. Fibrille longitudinali, decorrenti dal lato prossimale verso quello distale.

2. Fibrille trasversali, che si dirigono a destra e a sinistra della cellula, e che, all' esterno di questa, vanno a formare i ponti intercellulari.

3. Fibrille perpendicolari che dallo strato cilindrico dell' epidermide si dirigono verso quello granuloso.

In base a tale classificazione Rosenstadt ammette che in ogni spazio intercellulare esista una sola specie di fibrille, e nei tagli frontali e paralleli, le fibrille trasversali vengono naturalmente a trovarsi sezionate.

Schridde, Rosenstadt, Anitschkoff, hanno veduto fasci di fibrille arciformi che partendosi dallo strato basale si dirigono verso l'alto e terminano nello strato spinoso a varie altezze.

Schridde e Anitschkoff descrivono la parte terminale delle fibrille come appuntita, Herxheimer ritiene che essa di regola sia invece ingrossata.

Si è discusso ancora sopra alcune formazioni descritte da Herxheimer: questo autore avrebbe visto delle particolari fibrille foggiate a spirale, che hanno sede specialmente nello strato basale[1]) e le interpretò dapprima come sbocchi di un sistema di canali, di poi come contorni cellulari. Eddowes e Jadassohn le considerarono come fibrina, Benecke, Schütz, Ehrmann, le ritennero artefatti.

Per Unna e Kromayer, Migliorini e Locatelli, fanno parte delle fibrille epiteliali: tutt'al più si debbono ritenere fibrille più colorabili delle altre.

Weidenreich, Anitschkoff, e molti altri ritengono che l'aspetto spirale rappresenti appunto una forma particolare con cui le fibrille compaiono nello strato basale.

Herxheimer ha descritto anche particolari ciuffi di fibrille extracellulari situate a un polo del nucleo, irradianti verso la cute, che più tardi egli stesso ha ammesso far parte delle fibrille epidermiche.

Altre speciali fibrille trasversali (contestate da Weidenreich e da Anitschkoff) sono state osservate da Rabl.

Per riguardo alla natura delle fibrille epidermiche, Sheridan Delepine e dopo di lui Ida Manille (1890) hanno sostenuto che esse rappresentano l'avanzo dei filamenti acromatici sperdutisi nel processo della citodieresi. Tale opinione, severamente criticata da Henneguy e da Branca, non è oggi comprovata dalle ricerche più recenti.

---

[1]) Va ricordato che Ranvier per primo e dopo di lui molti altri autori, negarono l' esistenza delle fibrille nello strato basale.

Arnold crede le fibrille epiteliali costistuite di plasmosomi, e le ravvicina alle formazioni analoghe delle cellule epatiche (filam. di Pflüger e Kuppfer), di quelle renali e via dicendo.

Pappenheim le ravvicina alle fibrille del sistema nervoso.

Unna estendendo alle cellule epiteliali la sua teoria della presenza di uno spongioplasma e di un granoplasma come costituenti elementari di tutte le cellule, ritiene che le fibrille rappresentino un prodotto evolutivo, funzionale delle cellule stesse (soprattutto destinate a scopo di difesa), situati fra le maglie dello spongioplasma.

Migliorini accoglie almeno in parte la teoria di Unna. Herxheimer accetta la teoria di Bütschli, ammette uno spongioplasma alveolare e propende invece a ritenere il granoplasma come un prodotto patologico dovuto alla frammentazione del reticolo.

In massima la maggioranza degli autori moderni li ritiene una produzione protoplasmatica (esoplasma di Studnicka). Per i ponti e i canali intercellulari sono noti i metodi di Kolossow, Mitrophanow, Reinke ecc.

Per la dimostrazione delle fibrille sono stati preconizzati vari metodi.

Ranvier le esaminò coi prismi di Nicol e notò la loro birifrangenza, e Blaschko attesta che si possono vedere anche senza colorazione su sezioni di pezzi fissati in liquidi cromici.

Kromayer, Fischel, Benecke, Unna usarono varie modificazioni al metodo Weigert (violetto di metile, sol. di Lugol, anilina-xilolo).

Reinke adoperò la safranina, poi liquido di Lugol e acido picrico.

Van der Stricht usava una fissazione prolungata in liquido di Flemming o di Altmann, trattamento con acido pirolegnoso, colorazione con safranina.

Schütz attesta che le fibrille epidermiche possono rilevarsi con l'ematossilina ferrica di Benda e di Heidenhain, col carminio ferrico di Zacharias, e in particolar modo consiglia di colorare con estratto di legno di campeggio e successivamente trattare con acido picrico e poi con solfato di ossido di ferro.

Weidenreich, Tischutkin, Anitschkoff raccomandarono specialmente il metodo Heidenhain all' ematossilina ferrica.

Herxheimer raccomandò alcune modificazioni al metodo Heidenhain (sostituzione dell' allume con percloruro ferrico, dell' ematossilina con alizarina) e soprattutto si servì del metodo Weigert per la nevroglia;

raccomandò inoltre un particolare metodo al chreslylechtvioletto ed all' etere aceto-acetico.

Unna dopo aver dato una speciale modificazione al metodo Weigert, ne raccomandò uno particolare basato sull' azione mordente reciproca del Wasserblau coll'orceina in soluzione acetica.

Pasini ha dato una buona modificazione di tale procedimento.

Schridde ha usato il suo metodo per la colorazione delle granulazioni cellulari.

Alla questione: quale di questi metodi sia il migliore, è assai difficile rispondere. Intanto i procedimenti proposti da Schridde, da Herxheimer (metodo Weigert per la nevroglia) sono lunghi e difficili. Il metodo Reinke può dar buoni risultati quando si dispone di una buona safranina (che oggi non è facile trovare); i metodi Weigert-Kromayer, Weigert-Fischel e quello recente di Unna (specialmente nella modificazione di Pasini) sono da considerarsi forse come i migliori.

Nemmeno essi però vanno esenti da difetti, e ciò è stato notato da altri autori; così Anitschkoff fece rilevare le alterazioni che si producono coll' essiccamento nel metodo Weigert, Ehrmann il raggrinzamento portato dall' uso dell' anilina xilolo e via dicendo.

Si veggano, per le critiche dei metodi di dimostrazione delle fibrille in genere i lavori di Biach e di Anitschkoff.

Ma soprattutto, è, secondo me, da osservare che tutti i metodi proposti danno inconstanza di risultati: un miglioramento grande si ottiene servendosi di sezioni libere, precauzione questa che sarebbe bene ognuno usasse in tutte le ricerche accurate e minute di citologia: l'appiccicamento delle sezioni ed altre manipolazioni, tanto comode per chi ha molto lavoro, possono far variare grandemente le affinità coloranti fin al punto da mutarle totalmente. Ad ogni modo però anche con tale precauzione i metodi non vanno esenti da difetti.

Per questa ragione nello studiare il processo della eleido-cheratinizzazione cutanea normale, ho cominciato le ricerche *ab ovo*, nei più minuti particolari di tecnica e di struttura, e ho cercato quali siano i migliori mezzi di fissazione, inclusione, colorazione.

III.

È necessario anzitutto servirsi di pezzi freschissimi, presi da operazioni chirurgiche o da biopsie. Dopo 24—48 ore dalla morte, molte fibrille probabilmente per un fenomeno di autolisi, non sono più nettamente dimostrabili.

I fissativi che meglio si prestano sono il formolo in soluzione al 10%[1]), il formolo con ferrocian. di K (fissativo di Bulliard), o con sali di Carlsbad (fiss. di Bonn), il liquido di Orth, quello di Helly, il fiss. di Maximow[2]), l'alcool, il fiss. di Telliesnizky[3]), quello di Perényi, e quello di Unna[4]).

Bisogna invece diffidare di certi altri mezzi di fissazione come ad es. il metodo della cottura, i liquidi che contengono molto acido osmico o molto acido acetico (liquidi di Flemming, Hermann, Lindsay, Marchi, Benda, Altmann), coi quali può apparire un minor numero di fibrille.

Le formole più in uso di fissatori a base di acido osmico contengono per lo più anche dei sali cromici i quali hanno ottimo potere fissatore delle fibrille e allora l'azione deleteria dell'acido osmico e dell'acido acetico può essere in parte controbilanciata.

Dei fissativi a base di acido osmico, uno di quelli che dà le migliori immagini è quello di Maximow; assai meno bene, ma ancora discretamente, possono rilevarsi le fibrille con i liquidi di Flemming e di Marchi.

Il mezzo di inclusione adoperato non ha importanza eccessiva, se non in quanto, producendo coartazione o deformazione del pezzo, può alterare i rapporti reciproci delle varie parti.

Molte sostanze coloranti tingono in maniera più o meno elettiva il protoplasma delle cellule malpighiane: la Vesuvina, la Tropeolina 000, la Brillantcrocein 3BX, il Bordeaux R, la Brillantcrocein 00, la Croceinscharlach, l'Echtscharlach, il Blauschwarz B, il Rosso Congo, il Brillantcongo R, il Congocorinth G, il Kristallponceau, il Diaminreinblau, il Palatinchromblau, le Alizarine (soprattutto la Nitroalizarina), il Bleu di Chinoleina, la Cerulein S, l'Orceina, il Verde luce, il Verde jodo, le Fenilrosaniline in genere, come pure le Ftaleine, le Rodamine e le Safranine.

Fra tutti questi colori quelli che soprattutto si prestano bene per dimostrare le fibrille epidermiche sono il Bleu di chinoleina, l'Eritrosina, la Rodamina B, il Giroflé, l'Azzurro di indoina, il Victoriablau B.

È notevole la affinità naturale che verso le fibrille hanno le Safranine: colorando con fenosafranina o tolusafranina acquose (1%) e successivamente trattando con acido picrico acquoso saturo, e differenziando in alcool, si ha la colorazione di alcune fibrille epidermiche e dello strato eleidinico. Però le safranine che meglio servono a tale scopo, sono il Giroflé, e l'indoina.

---

[1]) Formolo di Schering cc. 10; acqua distillata cc. 90.

[2]) Liquido di Zenker cc. 100 + formolo cc. 10 + acido osmico al 2% cc. 10.

[3]) Alq. modificato: Bicromato di potassio 3% acido acetico 1%.

[4]) Acido picrico, acido tannico, aa. gr. 1; acido nitrico 0,1; acqua distillata cc. 100.

Vengono dopo l' eritrosina e le cianine e infine le rodamine, e fra queste soprattutto la safranilina (Rhodamin B) è più indicata delle altre.

In conclusione i seguenti metodi mi hanno dato i migliori risultati per la dimostrazione delle fibrille:

Fissazione in soluzione di formolo al 10%, oppure nel liquido di Tellyesnizki modificato.

Sezioni al congelatore, oppure inclusione in paraffina mediante il benzolo, l'anilina-benzolo, sparaffinate e trattate libere.

Colorazione con metodi che ora andrò esponendo.

I. Metodo alla Rodamina.

1. Soluzione di ematossilina ferrica di Weigert alcoolica[1]);
2. Alcool cloridrico; acqua di fonte;
3. Soluzione di Safranilina (Rodamin B) acquosa al 0,5—1,0%, 5′;
4. Acqua destillata;
5. Soluzione acquosa satura di picrato di ammonio 1′;
6. Acqua destillata;
7. Alcool assoluto;
8. Benzolo-Xilolo-Balsamo.

Con tale metodo risultano:

Le fibrille epidermiche colorate in rosso vivo;
I muscoli in azzurro;
Lo strato lucido in rosso scarlatto;
La cheratojalina in violetto (ematossilina).

Il metodo serve anche per sezioni appiccicate al vetro; in questo caso però si corre il pericolo che non tutte le fibrille vengano colorate.

---

[1]) Dò una volta per sempre la formula della modificazione da me usata alla soluzione di ematossilina ferrica di Weigert.

Pr. I	Ematossilina	gr.	2
	Alcool metilico assoluto puro (Merck)	cc.	100.

Lasciar maturare alla luce, in boccetta ben tappata la soluzione per 4—8—10 giorni.

Pr. II	Acido cloridrico	cc.	2
	Percloruro di ferro (tint. officinale)	»	8
	Alcool metilico puro assoluto	»	90.

Mesci le due soluzioni a p. uguali. La miscela così ottenuta in boccetta gialla, ben tappata, è pronta subito all'uso, stabile e inalterabile. Si colora per 2′—3′: si differenzia in alcool cloridrico previo lavaggio in acqua ecc.

II. Metodo al Giroflé.

1. Soluzione all' 1% di Giroflé (dimetilbenzoxililsafranina) 5′—10′;
2. Brevissimo lavaggio in acqua;
3. Soluzione acquosa satura di acido picrico (la soluzione alcoolica decolora eccessivamente) 1′—2′;
4. Lavaggio in acqua;
5. Differenziamento in alcool assoluto (controllando!);
6. Alcool assoluto rapidissimamente;
7. Benzolo, Xilolo, Balsamo.

Fibrille, cheratojalina e strato lucido rosso ciliegia intenso.

Strato corneo giallo.

Si può fare agire antecedentemente l'Ematossilina ferrica, che però riesce più o meno decolorata dall'ac. picrico.

Colle sezioni appiccicate al vetro non serve.

Su pezzi fissati in Bicromato di K si ha anche una bella colorazione nucleare, e le immagini sono nettissime.

III. Metodo al Victoriablau B — Kristallponceau.

1. Soluzione acquosa di Victoriablau B 1%, 5′;
2. Lavaggio in acqua;
3. Controcolorazione e mordenzamento in soluzione acquosa di Kristallponceau 1%, 1′;
4. Lavaggio in acqua;
5. Differenziamento in alcool assoluto (fintantochè il connettivo sia roseo);
6. Alcool assoluto — Benzolo — Xilolo — Balsamo.

Fibrille bleu violette.

Muscoli rossi.

Strato lucido rosso scarlatto.

Membrane cellulari, fibrillature del corneo azzurre.

Molti nuclei, come pure molte fibre elastiche e prodotti degenerativi del collageno e dell' elastina (collacina, collastina ecc.) sono colorati in azzurro violaceo[1]).

Le immagini sono elegantissime, e il metodo, che è forse il migliore, serve anche per sezioni appiccicate.

---

[1]) La colorazione di tali elementi è ancora più intensa se si fa agire (dopo 4) una soluzione di tannino orange.

IV. Metodo all' Indoina-Eliantina.

1. Colorazione con azzurro d'indoina (cloridrato di Safraninazo-β-Naftolo)[1]), acquosa concentrata 5′;
2. Lavaggio in acqua;
3. Soluzione acquosa di Eliantina al 0,5%, 1′—2′;
4. Lavaggio in acqua;
5. Differenziamento in alcool fino a tinta giallo oro del connettivo.
6. Alcool assoluto — Benzolo — Xilolo — Balsamo.

Fibrille epidermiche gigrio-nere nettissime. Si può antecedentemente fare una colorazione con litiocarminio, e successivo differenziamento in alcool cloridrico: si possono allora vedere bene i rapporti fra nuclei e fibrille.

V. Nella stessa maniera dei due metodi precedenti può usarsi il Victoriablau B o l'Indoinblau o il Janusgrün colla Neucoccin (colore analogo al Kristallponceau).

VI. Delicatissime immagini delle fibrille epiteliali e preparati molto eleganti si hanno combinando l'azione dell'eritrosina con quella della cianina. Queste due sostanze hanno di per sè una affinità naturale verso il protoplasma fibrillare dello strato spinoso: facendole agire successivamente esse manifestano un potere mordenzante reciproco; se si differenzia successivamente con picrato di ammonio (e volendo si fa precedere una colorazione con rosso d'acridina — che non serve nel metodo particolare come colore nucleare, ma anch'esso agisce da mordente) si ha complessivamente un metodo che dà elegantissimi preparati.

Esso però è un po' più lungo degli altri, e occorre un po' di pratica per ottenerne buoni risultati. Su sezioni appiccicate non serve affatto.

Ecco in breve i vari passaggi (il rosso di acridina non è necessario):

1. Soluzione acquosa di eritrosina all' 1%, 3′—5′;
2. Acqua distillata;
3. Soluzione alcoolica di cianina (bleu di chinolina) all' 1% in alcool a 95°, 5′—10′;
4. Acqua distillata;
5. Soluzione acquosa satura di picrato di ammonio 1′;
6. Acqua distillata;

[1]) Il bleu di indoina è un azoderivato della Safranina, ossia un cloridrato di Safraninazoß-naftolo. Va notato che la soluzione acquosa si conserva poche ore, assumendo subito une consistenza gelatinosa, e la soluzione alcoolica non serve. È bene preparare ogni volta la soluzione con una punta di coltello di sostanza entro due dita di acqua distillata, in una comune piovetta.

7. Alcool assoluto (controllare il differenziamento);
8. Alcool assoluto, benzolo, xilolo, balsamo.

Cheratojalina e fibrille epidermiche violette.

Strato lucido rosso o aranciato [1]).

Di tutti questi metodi, i più semplici e più sicuri sono quelli all'azzurro di indoina e più ancora al bleu Vittoria [2]).

È necessario in ogni caso fare preparati in cui il diverso grado di differenziamento ottenuto coll'alcool permetta di aver tutte o parte delle fibrille colorate; in tal maniera si possono vedere meglio i rapporti, il modo di formarsi, l'evoluzione, il modo di disporsi, il quantitativo delle fibrille stesse.

Le sezioni appiccicate al vetro possono falsare i risultati. Solo col metodo al Victoriablau + Kristallponceau possono usarsi sezioni attaccate, e quindi con questo si possono fare sezioni in serie, secondo tagli trasversali e superficiali, in maniera da avere un buon orientamento sotto ogni aspetto per la dimostrazione delle fibrille.

IV.

Nella cute palmare e plantare si osserva che di regola lo strato basale vero e proprio non mostra fibrille di sorta. Però in zaffi ampi, a larga base, su preparati intensamente colorati con indoina e eliantina è facile riscontrare nelle cellule a nuclei ovali e ben colorabili che hanno diretto rapporto col derma papillare fibrille nettissime poste fra cellula e cellula (quasi si potrebbe dire fra nucleo e nucleo, data la scarsità del protoplasma cellulare), fibrille che hanno i caratteri tipici delle spirali di Herxheimer: nel loro primo apparire sembrano quasi appendici della parete nucleare. Sono queste formazioni allungate, dirette in senso perpendicolare alla superficie degli zaffi, poste fra nucleo e nucleo, formate di numerose spire strette più o meno ondulate, le quali nel loro complesso danno tutto l'aspetto che su preparati per striscio colorati col Giemsa hanno gli spirocheti pallida e refringens [3]).

---

[1]) Si può in luogo dell'eritrosina adoperare il Rosa Bengala, o il Rosso floxina.

[2]) Debbo ricordare che una debole e imperfetta colorazione delle fibrille si ha con miscele di eosina-aurantia-indulina; di metilblau-eosina; colorazione con Coerulein e successivo trattamento con tannino orange, ecc.

[3]) Non posso fare a meno di fare rilevare la grande intima rassomiglianza che esiste tra spirali di Herxheimer e spirocheti risp. refring. e pallida. Non intendo sollevare il dubbio che in certe forme papulose, con fenomeni acantosici evidenti o con necrosi di zaffi epiteliali, queste spirali di Herxheimer abbiano potuto essere interpretate per spirocheti; è bene però che tale estrema rassomiglianza (la quale in certi casi quasi si impone come una identità assoluta) non sia dimenticata.

In alcuni pezzi ho potuto vedere queste fibrille a spirale internarsi in certi punti fino nel derma. Per quanto ciò accada non troppo di frequente, pur tuttavia dimostra che l'epidermide può mandare delle sue fibrille nel connettivo, stabilendo un nesso intimo e reciproco fra i due tessuti.

Però le fibrille cominciano a mostrarsi con regolarità maggiore e più abbondanti soltanto sopra lo strato basale; e ciò accade nella grande maggioranza dei casi. Si vede nettamente allora il distacco tra lo stato basale povero o privo di filamenti e lo stato spinoso, ricco di questi.

Il primo apparire delle fibrille è sempre perinucleare, però varia il modo con cui inizialmente si presentano. Alcune volte di fianco ad un nucleo si vede apparire una fibrilla spirilliforme che è più o meno ricurva e situata quasi tangenzialmente al contorno nucleare, altre volte invece di una ve ne sono due o più, e sovente esse circondano e abbracciano il nucleo ad arco per un tratto più o meno lungo. Talora due sole fibrille circondano interamente il nucleo, tal' altra basta una sola ad avvolgerlo tutto.

Dove gli zaffi interpapillari sono molto sottili, si nota questo fatto che esternamente lo zaffo è costituito da uno strato di cellule cubiche basali, e nell'interno esiste uno spazio ristrettissimo pieno zeppo di fibrille, disposte quasi tutte nel senso dell'asse dello zaffo, e raggiungenti qui il massimo del loro aspetto a spirale e il massimo del loro volume, sia in lunghezza, sia in grossezza. Si direbbe quivi che ogni nucleo fosse schiacciato e compresso dalla invadente formazione fibrillare.

Però nei preparati colorati con ematossilina di Weigert, e poi con Rodamina, come con litiocarminio, indoina ed eliantina, nei quali si può fino ad un certo punto osservare la colorazione nucleare degli strati più bassi, si può vedere come attorno al nucleo esista quasi sempre una listerella regolare circolare, incolora, netta, sempre assai sottile che separa il nucleo stesso dalle prime fibrille che si formano nello spazio perinucleare. Non sempre questo alone incolore è visibile, non saprei dire allora se manca o piuttosto se la sezione sia caduta in maniera che esso non appaia palesemente. Facendo esami a fortissimi ingrandimenti si può andare ancora oltre e vedere allora come tutto intorno al nucleo che per la presenza della listerella chiara appare quasi a doppio contorno, compaiono delle goccioline dapprima piccole e pallide, che poi si ingrossano, si fanno fortemente tingibili coi reattivi delle fibrille e vengono a riempire una stretta zona perinucleare, internamente circolare, esternamente di forma più o meno poligonale. Questa piccola zona rappresenta tutto il protoplasma cellulare che si osserva nei primi stadi della produzione fibrillare.

Fra cellula e cellula esiste un evidentissimo spazio chiaro, costante che, illuminando tangenzialmente il preparato, appare attraversato in tutto il suo spessore da stretti filamenti di unione, incolori, rifrangenti. Questi che altro non sono che i primi abbozzi dei ponti di unione, compaiono precocemente, prima ancora che in seno al citoplasma comincino a manifestarsi le prime produzioni fibrillari.

Quando il protoplasma è limitatissimo, come accade negli stadi iniziali, i granuli citoplasmatici si addensano spesso a formare un anello con un punto nodale situato a un polo della cellula, o con due posti ai due poli di essa. Per lo più questi due nodi polari sono situati secondo una direzione parallela all'asse degli zaffi interpapillari.

Talvolta a un polo stanno due nodi e all' altro uno solo, tal'altra un solo nodo è visibile. Spesso poi questo anello appare incompleto e si manifesta lungo un solo tratto perinucleare. Altre volte ancora si osservano tre o quattro punti nodali più o meno simmetricamente disposti.

Questi diversi aspetti e figure altro non rappresentano se non stadi diversi di sviluppo della produzione fibrillare. Il graduale successivo formarsi dei filamenti risulterebbe dall' accumularsi e dal sommarsi di tutti questi granuli. Molte volte ad apparato fibrillare già costituito accade di vedere ancora attorno al nucleo, e per tratti più o meno estesi delle zone, dei granuli, più grandi per lo più dei precedenti che hanno un lontano aspetto di gocce cheratojaliniche; probabilmente sono fibrille o spire di fibrille sezionate.

Col progredire della funzione fibrillare si nota che mentre il nucleo non subisce modificazioni degne di nota, avviene un ampliamento progressivo del corpo protoplasmatico, di pari passo un aumento del numero dei filamenti e forse un maggior sviluppo (soprattutto in lunghezza) delle singole fibrille: dico forse, perchè si può discutere se realmente si possa parlare di un allungamento di queste fibrille (delle quali molte appaiono già assai lunghe fino nei primissimi stadi) o piuttosto se si possa accennare ad una specie di saldamento fra le fibrille di un corpo cellulare e quelle di un'altra cellula limitrofa e ciò per quelle fibrille che con grande evidenza si possono vedere, negli stadi più avanzati, passare da una cellula all'altra.

L'ampliamento del corpo cellulare che si osserva constantemente si fa palese soprattutto negli stadi ulteriori. Si vede allora che la cellula è venuta a poco a poco assumendo un aspetto poligonale a bordi più o meno rientranti, una figura abbastanza regolare, sempre restando separata dalle cellule vicine mediante una listerella apparentemente priva di qualsiasi formazione in certi punti, in altri attraversata da ponti intercellulari.

Nel suo accrescersi il corpo protoplasmatico lascia talvolta intravedere una sostanza fondamentale, d'aspetto appena finemente granuloso, che è quella che comunemente si tinge coi colori basici più in uso. Si deve quindi distinguere il prodotto di elaborazione specifico del protoplasma cellulare epidermico che è rappresentato dalla fibrilla, dalla sostanza fondamentale comune non differenziata

La moltiplicazione delle fibrille è un fenomeno evidentissimo e si avvera sia per la produzione di nuovi elementi, sia per lo sdoppiarsi in senso longitudinale delle fibrille più vecchie.

È facile vedere da una fibrilla più spessa il formarsi di fibrille più sottili. I punti polari nodali che si sono visti nei primi stadi diventano un centro di sfibrillamento che si manifesta sotto forma di ciuffi di filamenti che si allargano ad abbracciare il nucleo, mentre rimangono annodati ai poli. Successivamente anche ai poli le fibrille si sfasciano e allora si vede il nucleo avvolto come in un canestro di filamenti.

Negli zaffi più lunghi l'aspetto che assume la cellula è abbastanza costante e caratteristico: i filamenti sono quasi tutti disposti in senso longitudinale allo zaffo e solo tendono con curve eleganti e regolari ad incrociarsi diagonalmente, per portarsi in corpi cellulari limitrofi. Mano mano che ci si avanza negli strati più alti, le fibrille si fanno sempre più sottili, per la maggior parte perdono il loro aspetto spirale, mentre assumono dei rigonfiamenti fusiformi leggermente allungati che coincidono colla fuoriuscita delle fibrille dal corpo cellulare. Ciò è evidente sopratutto nei preparati fatti col Giroflé in cui la decolorazione è stata spinta abbastanza fino a colorare solo parte delle fibrille medesime. Si vede allora come nel punto in cui le fibrille escono dal corpo cellulare, assumono un ispessimento fusiforme, che su fasci paralleli appaiono in forma di una palizzata. Nello spazio intercellulare essi si continuano coi ponti di unione e quando raggiungono il corpo protoplasmatico della cellula vicina, subiscono lo stesso ispessimento fusiforme.

Ho parlato di continuazione dei filamenti coi ponti di unione. Come ho detto, stando alle mie ricerche, allorchè il corpo cellulare è ancora estremamente limitato e ridotto ad una specie di anello che circonda il nucleo, esistono dei ponti di unione rappresentati da filamenti non colorabili i quali uniscono i due corpi cellulari contigui. Allorchè le fibrille si sviluppano e penetrano nel corpo delle cellule vicine, seguono con probabilità questi ponti di unione. Più tardi quando si accresce il corpo cellulare, le fibrille, che si sono allungate e moltiplicate per sfibrillamenti successivi, lasciano, interposte fra loro, delle maglie e formano nel loro complesso un organo a struttura di rete o di spugna, quale per l'appunto

è lo strato fibrillare dell'epidermide. Va notato ancora che nel tragitto tra cellula e cellula, i tratti di unione o prolungamenti estracellulari delle fibrille, assumono sempre una colorazione più pallida dei filamenti intracellulari, e in certi preparati colorati con Victoriablau e Kristallponceau, questi ultimi si colorano sempre colla prima, mentre molte volte i tratti intercellulari assumono il Kristallponceau.

Un fatto si nota spesso ed è che sulla stessa sezione le fibrille mostrano una direzione parallela a zone: negli zaffi comuni, non ramificati, esse hanno una direzione prevalente longitudinale, cioè parallela all'asse dello zaffo. Successivamente esse si allargano a ventaglio, assumono una direzione obliqua che ulteriormente si fa orizzontale e si confonde con quella dei filamenti dello zaffo vicino. Tale è l'impressione prima che si riceve nell'osservare la disposizione più semplice delle fibrille. Ma, esaminando meglio il preparato, osservandolo là dove più spessa è l'epidermide, si possono trovare fibrille che si impiantano perpendicolarmente sull'endoplasma e da questo passano, dopo attraversato tutto il corpo cellulare nel corpo di una cellula vicino, altre descrivono un arco o un S più o meno accentuato.

In altri punti è evidentissimo lo speciale aspetto di reticolato a maglie losangiche che queste fibrille assumono per lo intrecciarsi di due serie in senso diagonale.

Altrove ancora esse avvolgono con spire lunghe e asseriate il nucleo.

La descrizione minuta del modo come si producono le fibrille epidérmiche nella cute palmare e plantare porta ad alcune considerazioni.

Queste fibrille appaiono nel loro primo inizio come elementi dal carattere spiraliforme o spirillare e sono poste tra le cellule per lo più dallo strato corneo basale: più sopra difficilmente si trovano, e in ogni caso la loro presenza non è costante, o, per meglio dire, esse non sono dimostrabili con quei metodi che le mettono in evidenza nello strato sottoposto.

Molte volte invece si vedono nettamente internarsi nel collageno; il dubbio che si tratti di elementi propri di quest' ultimo strato addentratisi nell'epidermide, mi pare sia da escludersi, perchè nel collageno non ho potuto mai rilevare fibrille aventi le reazioni delle fibrille epidermiche. Il fatto però apre la questione dei rapporti fra derma ed epidermide ai quali voglio accennare di sfuggita.

Alcuni autori hanno descritto fra derma ed epidermide una membranella anista, omogenea, rifrangentissima, che è stata chiamata membrana intermediaria (Henle), membrana prima (Hensen), citoblastema (Krause), basement membrane (Tood, Bowmann), membrana basale (Ranvier), pellucida profonda (Dutrochet), mem-

brana vitrea e via dicendo. Anche autori recenti come il Duval e il Branca, la ammettono e la descrivono. Essa sarebbe sopratutto ben visibile su sezioni trattate con alcool e acido osmico, in forma di una listecella a doppio contorno, sottilissima, che si ispessisce a livello dei peli e delle gl. sudoripare. Resiste agli acidi, si colora in giallo col picrocarminio, in lilla pallido coll'emateina, in rosa coll'eosina. Secondo alcuni autori apparterrebbe al connettivo, secondo altri all' epidermide.

Le fibrille del collageno terminerebbero addossandosi su di essa ai lati e alla sommità delle papille, dove si troverebbero inoltre delle incavature d'attacco tanto dal lato della vitrea, quanto da quello del collageno.

Senza soffermarmi a discutere, dirò subito che tale membrana è molto problematica, e senza volere negarne assolutamente l'esistenza, debbo però dichiarare che nel corso delle mie ricerche non m'è stato dato mai di poterla nettamente riscontrare; nei casi nei quali rilevai una presenza di essa, non era possibile escludere il dubbio si trattasse di un prodotto artificiale o d'un apparenza fallace.

D'altra parte non va dimenticata l'affermazione di Balzer, Benecke, Schütz, Secchi (contraddetta però da Herxheimer e Müller), secondo la quale fibre elastiche potrebbero passare in seno all' epidermide, e l'altra di Kromayer che avrebbe potuto constatare dei rapporti tra le fibrille del collageno e quelle dell'epidermide.

Ciò che ho potuto constatare nel corso delle mie ricerche non mi porta a condividere l'opinione di questi autori.

Ho già fatto rilevare l'importanza che ha l'osservazione che qualche fibrilla epiteliale si inoltra in seno al derma. Ora debbo aggiungere che su sezioni di pezzi fissati in soluzione di bicromato di K 3% + acido acetico 1% inclusi in paraffina oppure sezionati al congelatore, colorate (senza appiccicamento al vetro) con una miscela di eosina, aurantia, indulina, analoga a quella di Ehrlich[1]), per 3′—5′, lavate in acqua, passate in alcool, benzolo, xilolo, balsamo; le cellule basali dell'epidermide appaiono come provvedute di un piede, simile a quello che si osserva in cellule epiteliali di altri organi e che corrisponde alla zona di contatto fra il connettivo e l'epidermide.

Esaminato attentamente e a forte ingrandimento, ecco di che cosa in realtà si tratta. Il collageno nello strato più prossimo all'epidermide forma talora una sottile listerella di fibrille che è più o meno appariscente e distinto. Altre volte le fibrille giungono, perpendicolari alla superficie

---

1) Per la formula v. funzione cheratinica.

della cute, fino ad addentrarsi framezzo agli elementi basali i quali sembrano avere così un lungo fiocco fibrillare che si immette entro al connettivo stesso.

Queste fibrille si condensano alla base dell'epidermide, si internano per qualche tratto fra le cellule di quest'ultima e danno così l'impressione perfetta che gli elementi epidermici della base posseggano un piede, il quale invece altro non è se non il condensamento delle fibrille connettivali più prossime all'epidermide[1]).

Questa particolarità di struttura dimostra che il derma e l'epidermide sono intimamente collegati fra di loro dall'insinuarsi e dall' incatenarsi di fibrille del collageno in seno all'epidermide; mentre (con minor frequenza) i filamenti di quest' ultimo si addentrano nel primo.

Un'altra particolarità già ricordata è la esistenza di filamenti non colorabili che disposti in serie parallele vanno in senso trasverso da una cellula all'altra. Di rado si manifestano nello strato basale, ma appaiono invece subito al di sopra di questo, non appena cioè la cellula epiteliale incomincia a manifestare la sua funzione specifica di produrre l'apparato fibrillare, anzi molte volte prima ancora che di questo si manifestino le prime traccie.

Questo fatto lascia supporre che ponti intercellulari e fibrille siano formazioni diverse intimamente connesse l'una all'altra.

Indubbiamente negli stadi iniziali dobbiamo riconoscere l'esistenza indipendente di queste due formazioni: l'una extracellulare ad apparizione precoce; l'altra di natura prettamente endoplasmatica che si manifesta poco dopo o può anche non apparire, perchè vi possono essere ponti intercellulari là dove non si ha nessun accenno a produzione fibrillare. Inoltre le fibrille sono intensamente colorabili con speciali mezzi mentre i ponti. non colorabili, si manifestano sopratutto come filamenti aventi una spiccata rifrangenza.

Negli stadi ulteriori bisogna ammettere che o le fibrille si insinuino lungo i ponti intercellulari, oppure che sopra di questi si depositi la sostanza stessa che costituisce il filamento epiteliale.

In tutto lo strato filamentoso e nei successivi fino al corneo, esiste lo spazio intercellulare chiaro che separa fra loro le varie cellule e che apparentemente è vuoto. Si ammette da molti che esso serva alla circolazione della linfa, opinione più che probabile, confortata dall'esperimento di Key e Retzius che sopra ho ricordato.

---

[1]) Si può veder bene tutto ciò specialmente su sezioni trasversali di unghia, a livello dello strato basale dell'epidermide sottoungueale.

Però con speciali metodi si può nello spazio chiaro mettere in evidenza una particolare formazione che ha tutto l'aspetto di una membrana.

Così se si colora con soluzione di nitroorceina[1]) una notte, si lava in acqua, si colora per 2′—5′ con soluzione acquosa all' 1% di porpora brillante di Hessisch[2]); poi si passa in acqua, alcool assoluto; benzolo; xilolo; balsamo; le membrane cellulari sono evidentissime fino nello strato fibrillare e tinte in rosso bruno.

Per mettere in evidenza la membrana cellulare si può ancora colorare colle soluzioni acetoniche sature di purpurina o di antrapurpurina; colla soluzione semplice alcoolica satura di purpura di Hessisch.

Facendo agire la soluzione alcoolica di ematossilina ferrica, e trattando subito dopo con un cromato o un bicromato (sopratutto di magnesio, di sodio, di potassio), la membrana si manifesta pure evidente[3]).

Di questa membrana se ne possono talora vedere traccie nello strato basale; si vede quasi sempre, tranne in vari casi nel fibrillare; si manifesta poi evidentissima nel cheratojalinico e negli strati successivi.

Essa appare in forma di una linea sinuosa e seghettata che circonda le singole cellule; in taluni punti sembra attraversata da spazi chiari che corrispondono con probabilità ai ponti intercellulari, ma altrove mancano tali spazi ed essa appare in forma di una linea continua.

Si può porre la questione se essa sia veramente una membrana oppure rappresenti il deposito delle sostanze coloranti negli spazi intercellulari.

In favore della sua natura membranosa stanno due fatti: il primo che negli strati successivi essa prende sempre più consistenza finchè nel corneo appare evidentissima e costituita di cheratina (Unna); il secondo che altri autori sono riusciti ad isolarla col procedimento della digestione. Su tale membrana dovremo ancora ripetutamente trattenerci.

È interessante studiare le oscillazioni e le variazoni che si osservano nella produzione fibrillare. Già sulle stesse regioni dei polpastrelli delle dita è facile constatare una produzione variabile di filamenti che però oscilla entro limiti abbastanza ristretti. Nelle regioni palmari e plantari vi sono piccole differenze; ma in ogni modo rappresentano sempre il massimo della produzione. A seconda che gli zaffi sono più o meno

---

1) Orceina Schuchardt gr. 0,5, ac. nitrico cc. 2,0; alcool a 80° cc. 98.

2) Hessisch Brillant Purpur (Grübler); è solubile in acqua; non si può usare la Hessisch Purpur, solubile in alcool, perchè decolora troppo l'orceina. La soluzione di Brillant Purpur va cambiata sovente perchè assume una consistenza gelatinosa.

3) Il miglior mezzo per dimostrare questa membrana è però dato dalle reazioni dei grassi che descriverò nella parte biochimica.

larghi, che la funzione filamentosa è più o meno attiva, abbondano anche le forme spirali dello strato basale. Nel rimanente in riguardo alla disposizione e alla morfologia vi sono poche differenze[1]).

In quasi tutte le altre regioni si osserva un tipo che, con qualche lieve differenza, appare costante. La linea degli zaffi interpapillari è quasi scomparsa o ridotta a lievi ondulazioni. Lo strato basale, fatto di elementi cilindrici o cubici mostra fibrille per lo più scarse ma tozze e lunghe, di aspetto grossolanamente spirillare, rivolte in senso perpendicolare alla cute e internantesi per breve tratto nel derma[2]).

Esse sono poste fra cellula e cellula e si trovano in numero di una o due o poco più.

Più sopra esistono poche linee di elementi che da cubici si sono fatti quadrati o poligonali. Tutti, al pari delle cellule basali, presentano i seguenti caratteri: un nucleo rotondo o leggermente ovale, di forma regolare più o meno ricco di cromatina, di aspetto più o meno granuloso, è attorniato dall'area chiara circolare nettissima e molto regolare. Essa si manifesta con una costanza quasi assoluta. Intorno all'area chiara esiste una strettissima zona citoplasmatica che è appunto quella che dà luogo alla formazione fibrillare.

Essa si colora intensamente coi reattivi di esse e mostra una, due o tre grosse fibrille, disposte a semicerchio, oppure in senso perpendicolare alla superfice della cute.

Si possono vedere anche le forme granulari iniziali e ponti intercellulari non colorabili che solo rarissimamente sono sostituiti da fibrille passanti da un corpo cellulare all'altro.

Negli strati più alti si vedono gli elementi disporsi quasi improvvisamente in senso parallelo alla superfice della cute, assumere un aspetto fusato, con fibrille che circondano il nucleo e con l'area chiara alla maniera di un elissi ad estremità appuntite.

Questo aspetto si osserva con varianti di poca importanza nelle generalità delle regioni cutanee.

Nel passaggio alle pseudomucose la produzione fibrillare va facendosi sempre più scarsa finchè nelle mucose scompare.

Si può considerare la funzione fibrillare delle varie regioni cutanee all' infuori di quella palmare e plantare, come in stato quasi rudimentale (e difatti vi si riscontrano i primi stadi di essa) ed anche di latenza,

---

[1]) Riguardo al quantitativo e alla presenza o meno di forme spirillari pongo in guardia contro agli errori che possono provenire dalla tecnica (vedi).

[2]) È evidentissimo in queste regioni il ciuffo di fibrille collagene che sembra formare il piede delle cellule basali dell'epidermide.

capace cioè di assumere maggior sviluppo quando le circostanze lo richieggano.

Nel cavo dell'ascella (dove la cheratinizzazione segue il tipo comune alla massima parte delle regioni del corpo) è caratteristica la formazione di pieghe numerose. ondulate, le quali si accompagnano a zaffi alti e sottili, come anche ad ispessimenti spesso notevoli del corpo malpighiano che sono irregolari per forma e localizzazione. L'apparato filamentoso è quivi ben sviluppato, ma anzichè assumere il tipo che si osserva in corrispondenza delle regioni palmari e plantari subisce piuttosto una specie di ipertrofia conservando i caratteri di quello delle altre regioni.

Le regioni nelle quali meno evidente è la funzione fibrillare sono quelle pelose e particolarmente il cuoio capelluto, dove nella massima parte, dei casi riesce difficilissimo constatarvi formazioni filamentose. Tutte le cellule hanno l'aspetto di elementi giovani epidermici.

Vedremo come queste regioni rappresentino per l'appunto quelle dove più scarsa o nulla è la produzione cheratinica.

In conclusione, dai risultati delle mie ricerche, credo così si possa sintetizzare la funzione fibrillare del corpo malpighiano.

Il derma e l'epidermide sono fra di loro connessi mediante un invio reciproco di fibrille da un tessuto all'altro: rare però sono le fibrille epidermiche che si internano nel derma, più frequenti e costanti sono invece gli elementi filamentosi del collageno che si introducono fra le cellule basali dell'epidermide; esse si condensano poi fra i due tessuti ed a questo condensamento corrisponde la membrana basale, descritta e ammessa da molti autori.

Quando le cellule dello strato basale possiedono fibrille queste hanno l'aspetto spirale o spirillare, quale è stato descritto da Herxheimer.

Il primo prodursi delle fibrille è sempre intracellulare e lo si può spesso constatare in forma di goccie che si depositano nello strettissimo corpo protoplasmatico e si aggruppano a cercine o ad anello.

Fra nucleo e protoplasma esiste un'area chiara, pure anulare, che si mantiene fino negli strati più alti dell'epidermide. Fra cellula e cellula si osserva pure un'area chiara permanente che è sede di particolari formazioni: nelle parti più basse dell'epidermide essa è attraversata da specie di ponti che uniscono due corpi cellulari limitrofi e che hanno la particolarità che coi metodi finora usati non si colorano: si vedono solo per la loro forte rifrangenza. Più tardi quando si vedono fibrille passare da un corpo cellulare all'altro, allora esse sembrano seguire questi filamenti acromatici, i quali in seguito vengono mascherati dalle fibrille stesse.

Nello stesso spazio intercellulare si vede formarsi assai precocemente una membrana che all'inizio è rilevabile con difficoltà e sembra costituirsi in forma di tante goccie che si depositano negli spazi lasciati liberi dai ponti di unione. Più tardi essa appare in forma di una linea ininterrotta.

Il corpo cellulare intanto arricchisce il suo apparato filamentoso di nuovi elementi, prodotti per lo più da sfibrillature dei filamenti preesistenti. Le fibrille si dispongono tangenzialmente o perpendicolarmente alla parete nucleare, ma assumono ben presto una direzione principale corrispondente a quella dell'asse degli zaffi: le singole cellule prendono allora il carattere di fusi, formati dal nucleo posto al centro e da fasci di fibrille che lo avvolgono con numerose ed eleganti spire.

-Uscendo dagli zaffi e entrando in pieno corpo malpighiano, le cellule fusate si obliquano, si spandono a ventaglio, le fibrille passano da un corpo cellulare all'altro formando dei ponti intercellulari colorabili cogli stessi reattivi delle fibrille. Questi ponti presentano spesso uno o due ingrossamenti di forma più o meno fusata e spesso asseriati in numero di 3—6.

Questa è la struttura che si osserva dove la cute è più spessa (regioni palmari e plantari), ed è a notarsi il fatto che dove più ricco è l'apparato filamentoso, più spesso è il corneo.

Nelle altre regioni, con oscillazioni più o meno grandi si osserva un tipo di produzione fibrillare abbastanza costante, dato da un apparato quasi rudimentale: lo stretto citoplasma che circonda l'area chiara perinucleare è costituito da due o tre grosse e tozze fibrille, disposte a semicerchio in senso dapprima perpendicolare alla superfice cutanea, e poi negli strati più alti parallelo a quest'ultima.

La produzione filamentosa è rudimentalissima o mancante nelle regioni pelose, manca a livello delle mucose. Come ho detto essa è più intensa dove più spesso è lo strato corneo, ossia nelle parti sottoposte a maggiori pressioni. È logico quindi porre in relazione con tale fatto la funzione dell'apparato fibrillare.

Bibliografia.

Adler. Struktur d. Oberhaut u. d. Verhornungsprozeß nach den Forschungen d. letzten 20 Jahren (1889—1909).

Anitschkoff. Centralblatt f. allg. Pathol. 1909. XX. 865.

—— Frankfurter Zeitschrift f. Pathologie. 1911. VI. III. 335.

Arnold. Arch. f. mikrosk. Anat. LII. 1898.

Balzer. Archives de Physiol. 1882.

Benecke. Centralbl. f. allg. Pathol. 1893. p. 1580.
—— Gesellsch. d. Deutsch. Naturf. u. Ärzte. Wien 1894.
Biach. Monatsh. f. prakt. Dermat. 1909. XLIX. 191.
Biesiadecki. Strickers Handbuch d. Lehre v. den Geweben. 1871.
Bizzozero. Annali Univers. di Medicina 1864. CXC.
—— Rendiconti R. Istituto Lombardo. 1870. III.
—— Moleschotts Untersuch. Bd. XI.
—— Internat. Monatschrift f. Anat. u. Histolog. 1885. II.
—— Centralbl. f. d. mediz. Wissensch. 1873. p. 482.
Blaschko. Deutsch. Dermat. Gesellschaft. 1889.
—— Arch. f. Anat. u. Physiol. 1884 e 1885. Physiol. Abteil.
Branca. C. R. Soc. Biologie. 1899.
—— Le tégument externe et ses dérivés. — Traité d'Anatomie p. Poirier et Charpy. T. V. f. II. Paris 1904. p. 721—950.
V. Brunn. Haut (Integumentum Commune). Jena, Fischer, 1897. (Abh. d. Handbuch. d. Anat. d. Menschen v. Bardeleben.)
Cajal. Internat. Monatschrift f. Anat. u. Histol. III. 1886.
Carlier. La Cellule. XI. 263.
Cohn. Anat. Hefte. V. Bd. Intercellul. Brücken u. Kittsubst.
Colomiatti. Anatomia Patologica della pelle; Op. postuma pubblicata da G. Martinotti. Torino 1884.
Mc.Connel. R. in Centralbl. f. allg. Pathol. 1910. XXI. 695.
Darier. Anat. et Physiol. de la peau. Pratique Dermatologique. T. I.
Délépine. Journ. of Anat. a. Physiol. 1883. XVIII.
Duval. Trattato di istologia; Traduz. ital. di Fusari e Sala. Torino 1899.
Eddowes. Monatshefte f. prakt. Dermat. 1890. XI.
Ehrmann. Arch. f. Dermat. u. Syph. XXII. e XXIV.
—— Deutsche Dermat. Gesellschaft. 1892. (Ergänz. - Hft. d. Archiv. f. Dermat. 1892. 303.)
—— Arch. f. mikrosk. Anat. XXXIII. 1894.
—— Mona tshefte f. pr. Derm. XXIV. 1897.
Ehrmann u. Fick. Einführung in das mikrosk. Studium d. normalen u. krank. Haut. Wien 1905.
Ehrmann e Oppenheim. Archiv f. Dermat. u. Syph. 1903. LXV.
Favre et Regaud. Lyon médical. 1910. 1132.
—— C. R. Acad. des Sciences Paris. CL. p. 560.
Fischel. Ctblt. f. allg. Pathol. 1905. XVI. 593.
Flemming. Anat. Hefte. Bd. VI. 1896.
—— Arch. f. Mikrosk. 1884. XXIV, e 1891. XXXVII.
Galperine. Etude histologique de la Peau humaine normale, suivant les régions. Thèse. Génève 1912.
Garten. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1895—96. (Physiol. Abt.) 401.
Henneguy. Leçons sur la cellule. 1896. 446.
Herxheimer, G. Technik d. pathologisch-histologischen Untersuchung. Wiesbaden 1912.
—— Archiv f. Dermat. u. Syph. 1889. XXI. 645.
—— Dermat. Zeitschrift. 1909. XVI. 139.
Herxheimer, K. e Müller. Archiv für Dermat. u. Syph. 1896. XXXVI. 93.

Herxheimer. Arch. f. mikrosk. Anatomie. 1898. LIII, e 1899. LIV.
Jadassohn. D. Dermat. Gesellschaft. 1882. (Ergänz.-Heft d. Arch. f. Dermat. 1892. 303.)
Joseph. Dermato-histologische Technik. Berlin 1905.
Klein. Quartely Journ. of micr. Scienc. 1878.
Kölliker. Gewebelehre d. Menschen. 6. Aufl.
Kolossow. Archiv f. mikrosk. Anatomie. 1898. LII.
Krause. Zur Kenntnis d. Haut d. Affen. Inaug.-Diss. Berlin 1888.
Kromayer. Allgemeine Dermatologie. Berlin 1896.
—— Monatsh. f. prakt. Dermatologie. 1897. XXIV.
—— Arch. f. Dermat. u. Syph. 1890. XXII.
—— Arch. f. mikr. Anatomie. 1892. XXXII. 141, e XXXIX.
—— Dermat. Zeitschrift. 1897. IV.
—— Arch. f. Entwicklungs-Mechanik. 1899. VIII.
Landresse. Etude histologique de la peau humaine normale, suivant les régions. Thèse. Génève, 1912.
Ledermann. Haut. in Encykl. d. mikrosk. Technik. 2. Aufl. 1910. I. p. 609.
—— Die mikrosk. Technik. Wien 1903.
Ledermann u. Blanck. Die mikrosk. Technik im Dienste d. Dermatologie. Dermat. Zeitschrift. 1902. IX. S. 20 d. Separat-Abdruckes.
Ledermann u. Ratkowski. Die mikrosk. Technik im Dienste der Dermatologie. Braumüller, 1894.
Lewinsky. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1883. (Physiol. Abteil.)
Locatelli e Migliorini. Giornale ital. delle mal. veneree e della pelle. 1900. p. 44.
Loewy. Archiv f. mikrosk. Anat. 1891. XXXVII.
Lott. Untersuch. aus d. Inst. für Physiol. u. Histol. in Graz. 1873. Leipzig.
Majocchi. Lezioni di Dermatologia, raccolte da L. Bombicci e G. Pini. Bologna 1894—95.
Manille Ide. La Cellule. 1888. IV, e 1890. V.
Mertsching. Virchows Archiv. 1889. CXVI.
Mibelli. Dermatologia generale. Milano-Vallardi.
Migliorini. Giornale ital. delle mal. veneree e della pelle. 1902. p. 773 e 1903 p. 73.
Mitrophanow. Zeitschr. f. wiss. Zool. 1884. XLI.
Nussbaum. Anat. Hefte. Hft. 119. 1909. 271. (Vol. XXXIX. Fasc. III. p. 1).
Omeltschenko. Russky Wratsch. 1910. n. 44.
Pasini. Monitore zoologico italiano. XV. n. 12. Monatshefte f. prakt. Derm. 1905. XL. p. 492.
—— Unnas Festschrift 1910. 1. p. t. S. 226.
Philippson. Monatschrift f. prakt. Dermat. 1889.
Pianese. Zieglers Beiträge 1896.
Polverini. R. in Monatshefte f. prakt. Dermat. 1905. XL. 329.
Rabl. Arch. f. mikrosk. Anat. 1896. XLVIII. 430.
—— Arch. f. Dermat. u. Syph. 1897. XLI.
—— Deutsche Anat. Gesellschaft. 1896.
—— Histol. d. normalen Haut. Mraceks Hdbuch. d. Hautkrankh. 1902. Bd. I. S. 1—163.
Ranvier. C. R. de l'Acad. de Sc. 1879. LXXXIX. 667; 1882, XCV. 1374 e 1899.
Reinke. Zellstudien. Arch. f. mikrosk. Anat. XXX e XLIII.

Rémy. Recherches Histologiques sur l'anat. normale de la peau de l'homme à ses différents ages. Paris 1878.
—— Journ. de l'Anat. et Physiol. de la peau. 1878. XIV.
Renaut. Assoc. française pour l'avancem. des sciences. 1885. XIV. sess.
—— Traité d'Histologie pratique. 1897. T. II.
Retterer. C. R. Soc. Biologie. 1907. LXIII. 548.
—— Journ. de l'Anat. et Physiol. 1897.
Retzius u. Key. Biol. Untersuch. 1881. S. 206.
Rosenstadt. Über Protoplasmafasern in den Epidermiszellen. Inaug.-Diss. Zürich 1910.
Sappey. Trattato di anatomia descrittiva. Traduz. italiana di Antonelli. Vol. III. p. 548—633.
Schmorl-Alongo. Ricerche isto-patologiche. Torino 1911.
Schridde. Arch. f. mikrosk. Anatomie. 1906. LXVII. 291.
Schrön. Moleschotts Untersuch. IX.
Secchi. XI. Congresso internazionale. Roma VI. 241.
Schultze. Virchows Arch. 1864. XXX. 260.
—— Med. Centralbl. XII.
—— Arch. f. mikrosk. Anat. 1867. III.
Schütz. Arch. f. Dermat. u. Syph. 1896. XXXVI. 111. 1894 e XXIX.
V. d. Stricht. Anat. Anzeiger. 1893.
Studnicka. An. Hefte. Hft. 119. 1909. 1. (Vol. XXXIX. fasc. 3. I.)
Testut e Sperino. Anatomia Umana I. traduz. ital. Vol. II. IV. p. 4 e seg.
Thompson. Journ. of exper. med. 1906.
Tischutkin. Rif. da Anitschkoff.
Unna. Histol. und Entwicklungsgeschichte d. menschlichen Oberhaut u. ihrer Anhangsgebilde. Archiv f. mikrosk. Anat. 1876. XII.
—— Monatschrift f. prakt. Dermat. 1888. VII.
—— Dermatologische Studien. 1887.
—— Zwei vergessene Arbeiten, etc. Dermat. Studien. II. 2. 1889.
—— Monatshefte f. prakt. Dermat. 1894. XIX. 1.
—— Ibid. 1903. XXXVII. 289. 337.
—— Münchener med. Wochenschrift. 1903. Nr. 15.
Unna u. Bloch. Praxis d. Hautkrankh. 1908.
Weidenreich. Arch. f. mikr. Anat. 1900. LVI. 169 und LVII. 583.

Spiegazione delle Figure.

Tavola XXXV.

(Microfotografie fatte con un piccolo apparato Microfotografico Koristka, microscopio Koristka mod. II a, tubo 160.)

Fig. 1. Obbiett. apocrom. immers. 2 mm. oculare 6 compens. Da un preparato colorato con indoina e eliantina. Stadi iniziali della produzione fibrillare, ponti acromatici e cromatici.

Fig. 2. Id. id. colorazione con Victoriablau B-Kristallponceau. Strato basale con spirille di Herxheimer.

Fig. 3. Id. colorazione con Giroflé ac. picrico. Internamento delle fibrille epiteliali nel derma.

Fig. 4. Obbiett. 2 mm., oculare compens. 2. Colorazione con nitro-orceina Hessisch-Brillant-Purpur. Membrane del corpo malpighiano.



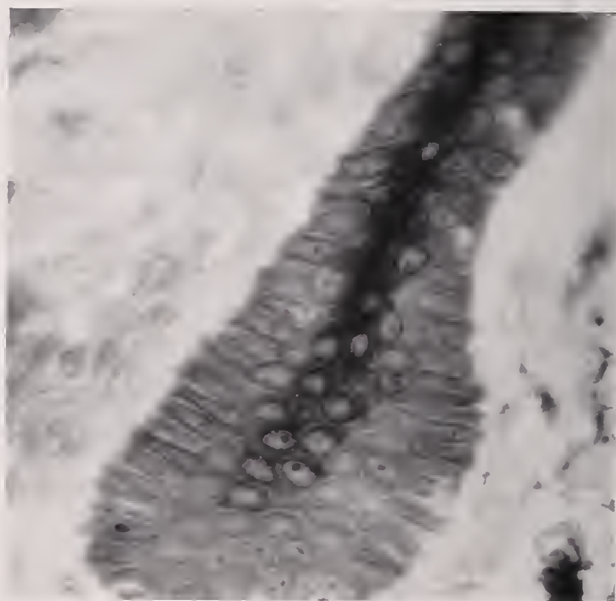


Fig. 1

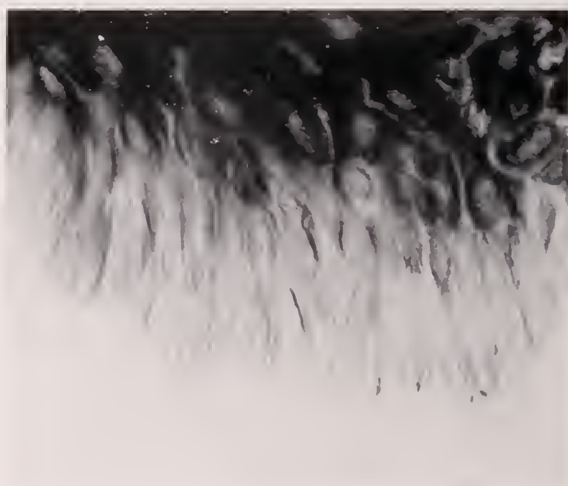


Fig. 2

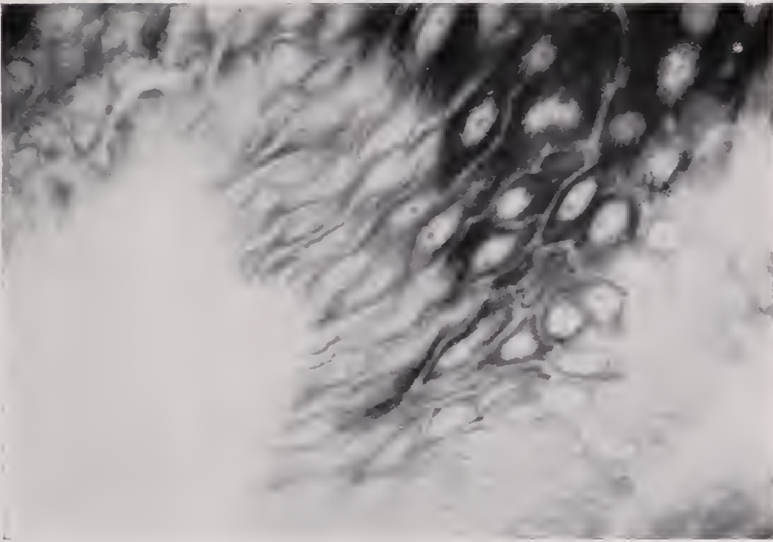


Fig. 3



Fig. 4

The Chromosomes of Euschistus variolarius, Euschistus servus and the Hybrids of the F_1 and F_2 Generations.

By

Katharine Foot and **E. C. Strobell.**

With 2 Text figures and Plate XXXVI.

The chromosomes of *Euschistus variolarius* and *Euschistus servus* are peculiarly fitted to test the relation, if any exists, between the so-called sex-determining chromosomes and the transmission of an exclusively male or female character. The X Y chromosomes («sex-determining chromosomes») of both *variolarius* and *servus* are morphological structures which are sharply defined. There has been no controversy as to their presence and behaviour in these two species of Hemiptera and they are therefore most favourable for experiment. In order to test the relation between these two so-called sex-determining chromosomes and the transmission of an exclusively male character, we selected the deeply pigmented spot on the male genital segment of *variolarius* as a character well adapted for such an experiment. This spot appears only in the males of this species and is therefore an exclusively male character (text fig. 1).

It seems only logical to conclude that if a given chromosome carries the factors for the male genital segment, it carries also the factors for the pigmented area on this segment — especially as there is no other similar pigmented area on any other part of the insect. Further the pigmented area is never transmitted to the female, it is as exclusively male as are the male genital organs themselves. This pigmented area of *variolarius* — the genital spot — is absent in the males of *E. servus*, and a cross therefore between these two species should offer a trustworthy experiment of the value of the X Y chromosomes in the transmission of an exclusively male character.

These two species of Hemiptera offer another favorable feature — both have only 14 diploid chromosomes and this limited number makes it quite impossible to confuse the X Y chromosomes with the so-called ordinary chromosomes.

Methods. Both sections and smears were used for the parent species (*E. variolarius* and *servus*); but the smear method only was used for the hybrids. A comparison of smears with sections shows, in all cases, that the form of the chromosomes is demonstrated more clearly in smears than in sections and the smears have the added advantage of showing every chromosome in the group and each in its entirety.

Those who conclude that smears give unreliable results cannot have used the method properly. We never smear an entire testis on one slide unless this is necessitated by scarcity of material, for if too much material is used it is impossible to isolate the cells properly. We place a testis on one end of the slide and with a fine needle (No. 14) cut from it the area containing the cells at the stage required, the location of the cells having been first ascertained by the examination of sections. The selected area is dissected from the testis in a drop of water and these cells are then pushed by the point of the needle to the centre of the slide. The cells are then gently tapped apart by the point of the needle — never roughly spread over the slide by the length of the needle as is the usual method in smearing. The aim is to separate whole cells from each other and allow them to flatten and dry in a single layer, exactly as we isolate germinal vesicles from the growing eggs by pricking each egg and allowing the cytoplasm to flow out, carrying the germinal vesicle with it.

In smearing the testes, we have found it an advantage — when the chromosomes only are needed — to acidulate, with acetic acid, the drop or two of water in which the cells are tapped apart. This disintegrates somewhat the cytoplasm; but does not disturb the chromosomes, which are quite as perfect as the chromosomes of germinal vesicles for which we use only distilled water. We have found acidulated water offers no advantages for any of the ovarian stages; but a trace or more of acetic acid in the water used for the testes and embryonic cells acts like a gentle disintegrating agent and aids in separating the cells with as little disturbance as possible. We have found it advisable to use both methods (with and without acid) for in some stages one or the other may give the best results. We have found the use of acetic acid a disadvantage for the ovaries we have studied, for it behaves as a fixative for these cells and this coagulation makes it more difficult to separate the cells properly. For the testes, on the contrary, even 5% or

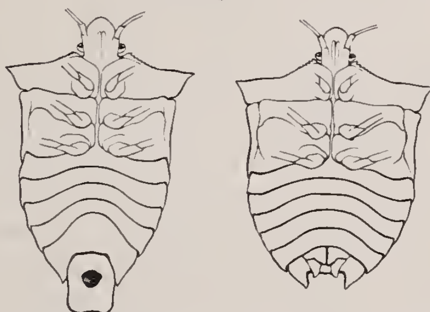
more does not cause the cells to adhere together as in the case of ovarian cells.

The work should be done under a dissecting microscope at a magnification high enough to show the individual cells.

Descriptive. We have several hundred photographs of the chromosome groups, of *variolarius* and *servus*, including the somatic chromosomes of both species as well as the chromosome groups of the first and second spermatocytes and the first oocytes — but owing to the expense of the bromide print method of reproduction we have had to limit our illustrations to a few examples of the first and second spermatocyte groups.

These groups demonstrate that the difference in size between the XY chromosomes of *servus* is quite as great as the difference in size of the XY chromosomes in *variolarius*, and therefore the relative size of these chromosomes is not a differential feature of these two species — compare for example the XY chromosomes of *variolarius* (photos 1 to 9) with those of *servus* (photos 10 to 15). We would draw attention to this fact because Wilson, '06, found in the individuals studied by him that the relative size of the XY chromosomes of *variolarius* and *servus* was a differential feature of the two species. He found the difference so marked that he could distinguish the species by the chromosome groups. He says: "The above described species of *Euschistus*, while agreeing precisely in the general relations, present individual differences so marked as to show that even the species of a single genus may be distinguishable by the chromosome groups. In this case the most interesting feature is the series shown in the inequality of the idiochromosomes, which becomes progressively greater in the series 1. *E. servus*, 2. *tristigmus*, *fissilus*, 3. *ictericus*, 4. *variolarius*, the inequality in the last case being fully as great as *Lygaeus*"

Text figure 1.



Male and female *Euschistus variolarius*, showing the black spot on the genital segment of the male[1], and the absence of a spot on the genital segment of the female. The figures demonstrate the marked difference in the form of the genital segment of the two sexes, showing that the spot could not appear in the female without a modification of the entire segment.

[1]) The male segment is slightly pulled out to show the entire ventral surface.

(p. 17). He demonstrates a marked difference in the relative size of the idiochromosomes of *E. variolarius* and *servus* in a and c of his fig. 4.

We have found no such difference in the individuals we have studied. We have not found it possible to distinguish the two species by their chromosomes, and differences found in individual chromosome groups can be of no genetic value, unless they prove to be constant for the species. Such a differential feature would have permitted an experimental test of the individuality of the chromosomes. In WILSON's fig. 4 the Y chromosome of *servus* is relatively so large that it is nearly as large as the X chromosome of *variolarius*. If such a relation existed in our material and we assume a male-producing spermatozoon, the relative difference in the size of the XY chromosomes of the F_1 hybrids should be conspicuously different from that of pure *variolarius*. If, on the contrary, relative size of the chromosomes is merely a structural feature which may be transmitted by either parent, this should be demonstrated by the F_1 and F_2 hybrids. As our material shows no appreciable difference in the relative size of the X Y chromosomes of *variolarius* and *servus* we were unable to put the individuality of the chromosomes to this interesting experimental test.

Our experiments, however, are quite adequate to determine whether either the X or the Y chromosome is necessary to the transmission of the genital spot of *variolarius*, and the experiments give evidence in no uncertain terms as to whether the so-called sex-determining chromosomes are necessary factors in the transmission of an exclusively male character. They show conclusively that the genital spot of *variolarius* (an exclusively male character) can be transmitted without the aid of either the X or the Y chromosome.

The details of crossing *variolarius* × *servus* are published in full (FOOT and STROBELL. '14) and the evidence demonstrated by a complete set of photographs. Briefly the results are as follows, from *E. variolarius* ♀ × *E. servus* ♂ we raised to maturity 11 males and 16 females of the F_1 generation. Seven of these pairs were isolated and the offspring from each pair raised in separate cages. From these seven pairs of F_1 hybrids we raised 249 ♀ and 204 ♂. From the back cross (F_1 ♀ × pure *variolarius* ♂) 8 ♀ and 18 ♂.

In our preliminary report of these experiments we discussed recent chromosome theories in the light of the results of our experiments, accepting, for the sake of the argument, the assumptions involved in the theories. We quote the following from this preliminary report:

"Recent experimental results have caused a marked modification

of the views of some of the adherents of the more extreme chromosome hypotheses, forcing them to modify the theory of the individuality and continuity of the chromosomes so far as to admit that there must be an interchange of chromatin between individual chromosomes and that the chromosomes which emerge from synapsis are 'probably not identical with the original conjugants' (Wilson, '12, pag. 422). They do not, however, extend this interpretation to the X Y chromosomes: 'the degree of union may vary in different cases, involving sometimes no fusion, as is suggested by the history of the X Y pair' (Wilson, '12, pag. 417). This would seem to be an inevitable conclusion, otherwise any facts that could be assumed to be explained on the supposition of an interchange of factors between X and Y would be inexplicable for those forms in which no Y is present.

In analyzing the results of our recent experiments we shall accept, for the sake of the argument, the above assumption that there is no interchange of material between the X Y chromosomes, and also the hypothesis of male- and female-producing spermatozoa."

The maturation divisions of the X Y chromosomes of the spermatocytes of *variolarius* and *servus* were described by Wilson ('06). The typical behaviour of these chromosomes is to divide in the first division as independent univalents, and to separate in the second division — each going to the opposite pole, thus producing a visible morphological difference in the resulting spermatids. The X Y chromosomes of *variolarius* are demonstrated in photos 1 to 9. In photo 2 they appear as a tetrad at the extreme left of the group — this photo demonstrating that these two chromosomes may form as distinct a tetrad as the ordinary chromosomes. In the preparation, the 4 parts are clearly attached though the longitudinal and transverse clefts are so deep that they almost obscure the connecting chromatin. Compare this tetrad with the cross-shaped tetrad in the F_2 group of chromosomes in photo 24. Such a cross-shaped bivalent is often met among the ordinary chromosomes of both *variolarius* and *servus*.

The first spermatocyte metaphase groups of chromosomes of *variolarius* are shown in photos 1 to 4, and they demonstrate that the X Y chromosomes divide as independent univalents, while the so-called ordinary chromosomes divide as bivalents.

In all the photographs every chromosome is present in each group and the X Y chromosomes are easily identified. Photos 1 to 4 show typical chromosome groups of the first spermatocytes of *variolarius*, and photos 10 to 12 show typical chromosome groups of the first

spermatocytes of *servus*. In photos 10, 11 and 12 the X Y chromosomes of *servus* are side by side and it is obvious that the difference in the size of these two chromosomes is quite as marked in *servus* as in *variolarius*.

The second spermatocyte chromosomes of *variolarius* are demonstrated in photos 5 to 8 and those of *servus* in photos 13 to 15. These photos demonstrate that the X Y chromosomes of both species separate in the second division, the two going to opposite poles. A late telophase of this division is shown for *variolarius* in photo 9. This stage is frequently met in both *variolarius* and *servus* and also in the F_1 and F_2 generations.

Comparative.

A comparison of the above mentioned 3 stages of *variolarius* and *servus* with the same stages in the F_1 and F_2 generations will show that the chromosomes in the two parent species and in the two hybrid generations are apparently alike in their form and their behaviour — they have no differential features that are constantly present and therefore their morphological individuality cannot be put to the test of experimental breeding. The first metaphase chromosomes of *variolarius* are shown in photos 1 to 4, those of *servus* in photos 10 to 12, those of the F_1 hybrids in photos 16 and 17, and those of the F_2 hybrids in photos 24 to 27 (photo 28 shows a first telophase).

The second metaphase chromosomes of *variolarius* are shown in photos 5 to 8, those of *servus* in photos 13 to 15, those of the F_1 hybrids in photos 18 to 23 and those of the F_2 hybrids in photos 29 and 30. A late telophase of the second division is shown for *variolarius* in photo 9, and photo 31 shows the same stage in an F_2 hybrid.

A comparative study of these photographs fails to reveal any differential character in the chromosomes that is sufficiently marked and constant to be of genetic value as a test of the individuality of the chromosomes — they merely support Wilson's ('06), and later Montgomery's ('06) observations as to the behaviour of the X Y chromosomes in *variolarius* and *servus*.

The visible morphological difference in the spermatids resulting from the second division (photos 9 and 31) is one example of the evidence discovered in the insects that there are two types of spermatozoa differing in the form or number of their chromosomes, this discovery having raised the important question whether a morphological difference in their chromosomes involves a functional difference in heredity. This question has

revived the hypothesis that the chromosomes are the bearers and distributers of all hereditary characters. In our preliminary note we stated the case as follows:

"Belief in such a fundamental significance of the chromosomes has led its firmest adherents to interpret every phase of their morphological and physiological expressions into terms of a causal nature, even to the point of claiming that definite chromosomes — such as the so-called sex-chromosomes — are the determining factors of sex and of all sex-linked characters.

On the other hand a large number of cytologists have studied the chromosomes from an entirely different point of view — believing that their morphological phases are not to be interpreted in terms of a causal nature, but like many other organs of the cell they are the expression rather than the cause of cell activities.

These opposing interpretations can be strikingly demonstrated by a few quotations from recent papers. MORGAN ('11) writes: "The experiments on *Drosophila* have led me to two principal conclusions: First, that sex-limited inheritance is explicable on the assumption that one of the material factors of a sex-limited character is carried by the same chromosomes that carry the material factor for femaleness.

Second, that the 'association' of certain characters in inheritance is due to the proximity in the chromosomes of the chemical substances (factors) that are essential for the production of those characters" (pag. 365).

WILSON ('12) gives the stamp of his approval to MORGAN's conclusions. He says MORGAN's results "bring strong support to the view that the chromosomes are such bearers of unit-factors, for the whole series of phenomena determined in *Drosophila*, complicated as they seem, become at once intelligible under the assumption that certain factors necessary for the production of the sex-limited characters are borne by the X chromosome; and without this assumption they are wholly mysterious" (pag. 420—421).

As opposed to these definite expressions of faith in the causal nature of the chromosomes, we may quote CHILD's latest repudiation of all such hypotheses. "Let us take the case of the chromosome, for example, which plays so important a part in recent biological hypothesis. What is the chromosome? If it is what many authors seem to believe, it is an autonomous being endowed with something more than human intelligence. But if we are not willing to believe this, then we must regard the chromosome as an incident or result of dynamic processes

in the organism, like other morphological entities. If this is the correct view, then it is nothing ultimate or fundamental. We must analyze it into terms of the processes which have made it, and in this analysis we shall sooner or later find nothing more or less than the whole complex of processes which constitute the organism. The organism makes the chromosomes, not the chromosomes the organism" (pag. 33).

Our cytological studies have caused us to sympathize with the many investigators who have expressed skepticism of the causal nature of the chromosomes. For several years we have argued that the chromosomes in the forms we have studied show too much variability, both in their morphological and physiological expressions, to justify those theories which obviously demand a rigid compliance to a definite mode of expression. We demonstrated in 1905 that the form and relative size of the chromosomes in *Allolobophora foetida* are inconstant and in every publication since that date we have demonstrated variability in the form, relative size and behaviour of the chromosomes in every form we have studied, and we have consistently argued that such variability attacks the very foundations upon which the popular chromosome speculations of this decade have been built."

Even the few examples of *variolarius* and *servus* preparations given in this paper show some inconstancy in the relative size of the chromosomes which can be appreciated by a careful comparison of the photographs.

In photo 6 the two ordinary chromosomes at the upper left periphery of the group show a budding off of a part of their chromatin, which causes each to appear astonishingly like the X Y chromosomes which are in the centre of the group. Occasionally such constricted portions become independent of the mother chromosomes and divide as individual chromosomes.

In a recent paper on *Euschistus crassus* ('12 pag. 58) we described in some detail the occurrence of the separation of such small portions of the chromatin from the chromosomes of the spermatocytes, and from the chromosomes of the embryos, and we called attention to their resemblance to the supernumerary chromosomes described by Wilson ('09) in *Metapodius*, of which he says: "In behaviour they show an unmistakable similarity to the idiochromosomes; and for reasons given beyond I believe them to be nothing other than additional small idiochromosomes, the presence of which has resulted from irregularities of distribution of the idiochromosomes in preceding generations" (p. 150).

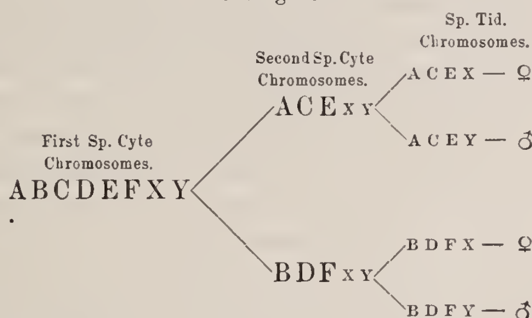
A similar separation of chromatin from the mother chromosomes

is seen in *servus* and in the F_1 and F_2 hybrids. In the thread-like chromosomes of the embryos the constriction frequently occurs at quite a definite point in one or both members of a diploid pair and frequently more than one pair show like constrictions or small detached portions which appear as independent chromosomes. Whether such appearances (which are present in both sections and smears) are normal, or pathological, or due wholly or in part to the technique, we have not been able to determine.

The X Y chromosomes and the genital spot.

If the transmission of the genital spot is dependent upon the presence of either the X or the Y chromosome this should be determined by our breeding experiments, in which we have crossed two species of Hemiptera — the genital spot being present in one species and absent in the other. A necessary step in determining this point is an analysis of the chromosomes based on the current assumptions as to their behaviour in the maturation divisions. We have attempted to illustrate the first and second divisions of the spermatocytes by a simple diagram (text fig. 2) in which we have used the methods of designating univalents by the letters of the alphabet, bivalents being represented as AB—CD—EF.

Text figure 2.



Scheme of the two maturation divisions of *Euschistus variolarius* and *Euschistus servus* based on the assnmption that the first maturation divisiou separates autosomes of maternal and paternal origin aud the second division halves them. The XY chromosomes on the contrary being halved in the first division and separated in the second division. The relative positions of the autosomes may be changed unless definite chromosomes are always destined to the same pole, bnt reversing their position in this regard does not alter the end resnlt—that the only chromosome common to both so-called male-producing spermatids is the Y chromosome[1]).

The above diagram illustrates the important point that on the above assumption as to the maturation divisions the Y chromosome is the only

[1]) For the sake of simplicity only six of the 12 autosomes are designated.

chromosome that can be in both so-called male-producing spermatozoa.

The two types of spermatozoa demonstrated in the diagram, i. e. those having the Y chromosome and those having the X chromosome, have given rise to the assumption that such a morphological difference involves an important functional difference, viz. when the spermatozoa which contain this Y chromosome fertilize the eggs, males are produced and when the spermatozoa which contain the X chromosome fertilize the eggs, females are produced. These so-called male- and female-producing spermatozoa are supposed to carry the factors which determine sex.

A belief in the fundamental significance of the chromosomes — that they are the bearers and distributors of unit factors — leads logically to very definite conclusions that may be tested by experiment.

Of the Y chromosome Castle ('09) said:

"I would offer the suggestion that we have a mechanism suitable for the transmission of characters exclusively male in the Y element described by Wilson, the 'synaptic mate' of the X element".

Of the X chromosome Morgan ('11) said: "What is most important is the discovery that the X chromosome contains not only one of the essential factors in sex determination; but also all other characters that are sex-limited in inheritance".

Experimental breeding with the aim of studying the transmission of such an exclusively male character as the genital spot of *variolarius* should be able to determine whether the X or Y chromosome is necessary to the transmission of such an exclusively male character, and we believe that the answer to this question will give significant evidence for or against the assumption that these two so-called sex chromosomes are the bearers of factors essential to the determination of sex. It is certainly logical to believe that if a given chromosome carries the factors that mould a definite segment of these insects into the form essential to the functioning of the male genital organs, that the factors for a definite pigmented spot on the same segment are carried by the same chromosome. The spot is a character that is as exclusively male as the genital organ itself and it is not logical to assume that the two characters have a different mode of transmission. We therefore claim the right to assume that if the results of our experiments show that the genital spot can be transmitted without the aid of either the Y or the X chromosome, it is a clear indication that the male genital organs themselves are transmitted independently of these chromosomes and therefore the assumption of sex-determining chromosomes in these insects does not stand the test of experiment.

In order to prove that the genital spot can be transmitted without the aid of the Y chromosome, it is necessary to show that it can be inherited directly through the female, and to prove that it can be transmitted without the aid of the X chromosome, it is necessary to show that it can be inherited directly from the male. Both these facts have been demonstrated by our breeding experiments with *E. variolarius* and *E. servus*.

A full report of the facts is in print and the results illustrated with a complete set of photographs, showing the exact appearance of the spot in the F_1 and F_2 males, as well as the results from a back cross, in which it is proved that the male can directly transmit the spot.

The bearing of these facts on the popular modern chromosome theories was discussed in our preliminary report, from which we quote the following:

"An analysis of the maturation divisions would seem to support Castle's suggestion that the Y chromosome may be the bearer of exclusively male characters, for this chromosome is the only one that can be in both the so-called male-producing spermatozoa of each quartette of spermatids resulting from the two maturation divisions, assuming that these divisions occur as illustrated in the text figure.

It would seem quite logical to conclude that if a character associated exclusively with the male sex can be inherited from the father, the factors which produce it should be in the so-called male-producing spermatozoon and if they are to be located in a given chromosome it must be the one and only chromosome that ex hypothesi can be present in all the so-called male-producing spermatozoa, otherwise the character would not be a constant feature.

If Castle's suggestion is correct, then all characters exclusively male can be inherited only through the father, as the Y chromosome is never in the female. If then *Euschistus variolarius* is fertilized by *Euschistus servus* — a form which lacks the spot — none of the offspring should have it, neither the F_1 nor the F_2 generation. As a matter of fact, however, the spot of *Euschistus variolarius* is transmitted through the female — appearing in a slight degree in the males of the F_1 generation and much more intensely in the F_2 generation — some of the offspring of this generation having the genital spot quite as conspicuous as that of their *E. variolarius* ancestors".

"If we attempt to locate the spot factors in the X chromosomes, we cannot expect these factors to be transmitted through the male-producing spermatozoon and therefore if an F_1 female hybrid is fertilized

by a pure *E. variolarius*, we should expect to have a no more pronounced spot in the offspring than we obtain by matings of two F_1 hybrids. The facts, however, demonstrate that the spot is transmitted through the pure male *E. variolarius* far more intensely than it is through the F_1 male".

This is strikingly illustrated by a comparison of the male offspring of an F_1 female and pure *variolarius* male with the 204 males we have succeeded in raising from seven pairs of the F_1 hybrids. We have 18 males from the former pair and the proportion with a strong *variolarius* spot is 14 out of the 18, whereas in F_2 generation the proportion is 18 out of 204. Further, none of these 18 males from this back cross are without any spot, whereas 84 of the 204 males of the F_2 generation have no spot whatever.

Our facts seem to have demonstrated two points: First, that the spot is inherited through the female without the aid of the Y chromosome, and second, that the spot is inherited from the male without the aid of an X chromosome. We seem forced then to admit that in this case neither of the so-called sex chromosomes is necessary to the inheritance of an exclusively male character, the factors of which, it would seem, ought to be contained in a chromosome which determines sex, if, in fact, sex-determining chromosomes exist. The spot in *E. variolarius* is a part of the male genital segment and it is only logical to assume that the factors which produce it are associated with the factors which produce the male genital segment itself, wherever or whatever those factors are. As the facts do not seem to warrant the assumption that these factors are confined to either of the so-called sex chromosomes, we may re-examine them in the light of placing these factors in some other chromosome or chromosomes.

As the so-called male-producing spermatozoon of many forms has no Y chromosome and therefore no male sex chromosome, it is obvious that if this spermatozoon is assumed to carry a factor which produces sex, this factor must be placed in some other chromosome, by those who believe that the chromosomes are the vehicles of such factors. Realizing this Morgan ('11) concluded that "the factors for producing the male must be located in some other chromosome" and he places these factors in a pair of homologous chromosomes, as shown by his scheme.

Gametes of female — XM — XM
Gametes of male — XM — M.

A glance at text fig. 2 will show that placing the male factors in an homologous pair of chromosomes (in A and B of fig. 2 for example) ne-

cessitates their presence in all the spermatozoa of both sexes, thus giving to the so-called female-producing spermatozoon the male-producing factors in addition to the female-producing factors. The female-producing spermatozoon is therefore heterozygous for sex and the male-producing spermatozoon homozygous for sex".

"If we assume with MORGAN that both members of a definite diploid pair of chromosomes contain the factors for producing a male, this must hold for the same diploid pair in both the female and the male, and if the factors producing exclusively male characters are linked with the factors for maleness, then each member of this diploid pair should contain the factors for producing the spot, which in *E. variolarius* is an exclusively male character.

As this diploid pair is in the female as well as in the male, it would seem necessary to assume that in *E. variolarius* the female carries an inhibitor of such exclusively male characters. But one is embarassed in considering where to place this inhibitor; if we locate it in both members of an homologous pair of chromosomes, then it would be in the male as well as in the female. If we place it in only one member of an homologous pair (in A, for example, of text fig. 2), this would involve selective fertilization, for if the female is fertilized by the so-called female-producing spermatozoon that is without the A, and she has by chance discarded the other A in her polar body, she also would have the spot, and further, half the male-producing spermatozoa have the A chromosome and therefore they must not function or the spot would be absent in half the *variolarius* males.

If we place the inhibitor in the three X chromosomes, the assumption obviously would not work, for the male has one of the three X chromosomes and the spot would therefore be inhibited in the male as well as in the female. It would therefore be necessary to assume that in *E. variolarius* two doses of inhibitor are necessary to cancel the spot. This assumption, which apparently would hold for *E. variolarius*, is, however, found to be untenable if used to explain the results of the cross between *E. variolarius* and *E. servus*, for the female hybrid cannot receive a double dose unless we assume that *E. servus* carries an inhibitor for inhibiting in the female a male character which is never present in the male. If, however, we feel justified in assuming that the female hybrid has a double dose of inhibitor, this would fail to explain the absence of the spot in those male hybrids, which do not have it, for they have only one X chromosome and therefore only one dose of inhibitor. We might avoid this by assuming that one dose only would be necessary for the

female hybrid, as she presumably has only one dose of spot factors; but this would involve inhibiting the spot in all the F_1 males also, which is opposed to the facts, as the spot is not inhibited in all the F_1 hybrids. The facts show that the spot factors — whatever they are — are latent in the female and if they are suppressed by an inhibiting factor, it would seem that this cannot logically be located in a definite chromosome."

"If we assume that each member of one diploid pair of chromosomes contains the factors for the genital spot, in addition to the factors for maleness, then the ripe egg of *E. variolarius* contains one such chromosome and it follows when the egg is fertilized by *E. servus* it will have one diploid pair of chromosomes that is homozygous for the factors producing a male, but heterozygous for the factors producing the spot.

Such a diploid pair should be present in all the offspring — both males and females, and if we cancel it in the females by assuming an inhibitor somewhere, we still have it in the males and therefore the spot should be quite as pronounced in the F_1 hybrid males as in *E. variolarius*." The facts, however, are as follows: None of the 11 male hybrids have a spot as strong as *E. variolarius*. 2 have no spot whatever, 4 have a spot so faint and small that it is barely visible, and 5 have a spot about one-third as pronounced as that of *E. variolarius*.

"Assuming that the diploid pair of chromosomes in the egg of *E. variolarius* which was fertilized by *E. servus* is heterozygous for the spot factors (that they are in chromosome A, for example, of the pair AB), then it must be asked why those in chromosome A are completely suppressed in some of the F_1 hybrids, while part of them find expression in other hybrids.

We might simply assume that some of the factors of chromosome A have dropped out, but the facts show this to be untenable for the spot reappears in the F_2 generation — in some cases quite as pronounced as in the pure *E. variolarius*. We must thus assume that the female *variolarius* has at least half the spot factors which she transmitted to the male hybrids, although these F_1 hybrids show either no spot at all or an incomplete spot. To account for these facts we must assume that the male hybrids differ from the pure males in having an inhibitor that inhibits those spot factors which are present but which are not expressed. We have seen that the facts will not allow placing the inhibiting factors in either the X chromosomes or the ordinary chromosomes and we are thus forced to admit that inhibiting factors — whatever they are — must be located outside the chromosomes — in the region of pure hypothesis. The facts force us to consign to these hypothetical inhibitors, not only

the responsibility of suppressing the spot factors in all the females, but also of determining just how many spot factors shall find expression in the males of the F_1 and F_2 generations, and thus they practically relieve the chromosomes of the burden of unit distribution."

The results of much of the experimental breeding of the past decade have been confidently offered in support of the hypothesis that factors determining the transmission of unit characters are carried and distributed by definite chromosomes. It is claimed that the transmission of some of the secondary sexual characters and "sex-linked characters" is explicable on the assumption that the factors essential to their determinatio aren linked with the factors which determine sex, and that these factors are contained in a definite chromosome — the X chromosome. This hypothesis, offered in explanation of the transmission of sex-linked characters, is clearly stated by Morgan ('11). His fine experimental work on sex-linked characters in *Drosophila* led him to the above-quoted conclusion: "What is most important is the discovery that the X chromosome contains not only one of the essential factors in sex-determination, but also all other characters that are sex-limited in inheritance."

Such extreme views of the function of the chromosomes in heredity are held by only a few of the investigators who have experimented with the inheritance of sex-limited characters. Other students of genetics, while accepting the hypothesis that the factors determining secondary sexual characters are linked with the factors determining sex, do not definitely localize them in the germplasm. These investigators treat both series of factors as purely hypothetical, the sex-linked factors being in some cases theoretically linked with the male — or female — determining factor, as the observed results of inheritance in their cross-breeding experiments seem to demand. In most of these cases the morphological facts of cytology are ignored, due to a scepticism of the existence of sex-determining chromosomes, or to the fact that the material is unfavorable for determination of the necessary cytological data. In the latter case the investigator who believes in sex chromosomes must simply assume his cytological facts. If the results of his experiments demand that the female be heterozygous for sex, the female should have the odd chromosome, and woe to the cytologist who dares to find an odd chromosome associated with the wrong sex!

A case in point is Guyer's ('09) claim that the male chick has an odd (X) chromosome. This is embarassing to the cytologist who believes that the presence of this odd chromosome is a proof that the male chick is heterozygous for sex, for it is claimed that the results of experimental

breeding of fowls have demonstrated that it is the female, not the male, that is heterozygous for sex.

Arkell's and Davenport's ('12) theoretical interpretation of the results of crossing horned with hornless sheep is a case in which the morphology of the chromosomes is a pure assumption, for they assume the female has two X chromosomes, and the male the odd X chromosome, whereas these all important cytological details are still undetermined.

From the point of view of the cytologist, it is disappointing that so much of the experimental work on the transmission of "sex-linked characters" has been done on material in which the morphology of the chromosomes is a very uncertain factor. The recent important discovery that in some forms it is possible to demonstrate a morphological difference between the chromosomes of the male and female has strengthened the hope that the chromosome theories might be put to the test of practical experimental breeding, and it is probably due to this important cytological discovery that so much valuable work has been done on the transmission of "sex-linked characters".

But the value of this work as a practical test is forfeited if the morphology of the chromosomes is unknown, or even doubtful, and this important factor must be supplied as a pure assumption. This difficulty is avoided in *Euschistus*. The morphology of the chromosomes of *variolarius* and *servus* can be demonstrated by photographs as clear as those of the genital spot.

Euschistus variolarius offers a still greater advantage, for the spot on the male genital segment is more than a sex-limited character, in the sense in which this term is frequently used by authors. As far as we are aware, scarcely any of the sex-limited characters which have been put to the test of experimental breeding are exclusively of one sex, for in some generations they appear in the opposite sex also, for example, Doncaster's pioneer experiments with *Abraxas*, the cross-breeding experiments with horned and hornless sheep, the transmission of spurs in fowls, the sex-linked characters in *Drosophila* etc. The spot on the male genital segment of *variolarius*, on the contrary, never appears in the female, and it therefore cannot be classed with the sex-linked characters, nor the secondary sexual characters that can be inherited by both sexes — it is a character that is part of the male genital segment and is as exclusively male as is the genital segment itself. This spot, therefore, would seem to be an exceptionally favorable character for testing the hypothesis that factors essential to the determination of sex and sex-limited characters are carried by "sex chromosomes".

The results of our cross-breeding experiments demonstrate that this exclusively male character can be inherited without the aid of the X chromosome, and without the aid of the Y chromosome, and further, they demonstrate that the factors determining the transmission of this exclusively male character cannot logically be confined in one or both members of any definite pair of the ordinary chromosomes. The facts, therefore, challenge all those hypotheses that are based on the assumption that the factors determining the transmission of unit characters are carried and distributed by definite chromosomes.

Recently FEDERLEY ('13) has drawn some important conclusions based on his observations as to the behavior of the chromosomes in the F_1 hybrids obtained from crossing *Pygaera curtula*, *anachoreta* etc., and he has offered these in explanation of some of the results of his cross-breeding experiments. He finds the inheritance of certain characters in the F_1 hybrids quite as difficult to classify as we find the genital spot in the hybrids of *Euschistus*. He says:

»Ich konnte nämlich keine unzweideutigen Beweise für eine alternative Vererbung finden, aber gleichzeitig schien mir das Vorkommen der sogenannten konstanten intermediären Vererbung noch unwahrscheinlicher . . . .« (pag. 5).

The observations upon which he bases his cytological explanation of the fact that he finds no distinctly intermediate or Mendelian type of inheritance are as follows:

»Die primären Bastarde. In der Prophase der ersten Reifungsteilung kommt entweder gar keine Konjugation der artfremden Chromosomen vor, oder eine solche von einzelnen Chromosomenpaaren. Im ersten Fall gehen alle Chromosomen selbständig in die Kernspindel ein, welche also die diploide Chromosomenzahl aufweist. Die Chromosomen teilen sich also äquationell. Eine Chromosomenreduktion findet also nicht statt. Werden dagegen diejenigen Fälle, in welchen eine Konjugation zwischen einzelnen Chromosomenpaaren geschieht, mit in Betracht gezogen, so ist die erste Reifungsteilung eine kombinierte Äquations- und Reduktionsteilung . . .« (pag. 48).

His text fig. D, pag. 71 shows clearly his conception of the relation between the mode of inheritance and the behaviour of the chromosomes:

"I. alternativer" (conjugation of all univalents at synaptic period)

"II. intermediärer" (no conjugation),

"III. kombiniert alternativer und intermediärer Vererbung" (one or more pairs conjugate).

»Die Folge des Ausfalls der Konjugation ist natürlich das Ausbleiben der Reduktionsteilung, wodurch also keine Spaltung möglich wird, und alle die gebildeten Gameten einander gleich werden und fortwährend eine vollständige Genengarnitur beider Eltern enthalten. Es herrscht also gar keine hochgradige Affinität zwischen den artfremden Chromosomen, welche in einer Verschmelzung derselben Ausdruck nehmen würde, sondern es findet umgekehrt eine starke Repulsion zwischen den Chromosomen statt, welche Genenreinheit zur Folge hat. Die Reinheit der Gene ist also nunmehr kein Kriterium der MENDELschen Vererbung allein."

»Die beiden jetzt beschriebenen und in der Textfig. D I und II abgebildeten Vererbungstypen bilden Extreme. Sie können aber dennoch kombiniert auftreten und kommen sogar bei dem Bastard *curtula* × *anachoreta* vor, wo wir den Modus II kennen lernten. Bei den andern primären Bastarden ist die Kombination der beiden Typen sogar die Regel. Dieser kombinierte Modus ist in dem Schema D III dargestellt.« (Pag. 70.)

In the majority of cases the genital spot in the F_1 hybrids from *variolarius* and *servus* shows the inheritance from both parents (intermediate type); but we find no evidence of what FEDERLEY describes as lack of affinity between the chromosomes. The first spermatocyte mitosis in the F_1 hybrids differs in no perceptible way from the first spermatocyte mitosis of pure *variolarius* or *servus*. Compare photos 1 to 4 — 10 to 12 — 16 — 18. If, as FEDERLEY supposes, the behaviour of the chromosomes in this spindle is an index of the behaviour of the chromosomes in inheritance, the phenomenon belongs to his above-mentioned class I, and the genital spot of these hybrids should show a pure alternative type of inheritance, which is not the case.

It might be of interest to examine the results of our experiments in the light of those theories which ignore the chromosomes, but which offer an explanation of the transmission of sex-limited characters on the assumption of a definite segregation of hypothetical unit factors, and a coupling or repulsion of these factors with the factors which determine sex. A comparison of our results with those explained by the above assumptions would, however, be unprofitable, for all these ingenious schemes which seem to offer a plausible explanation of many sex-limited characters are obviously inadequate to explain the transmission of the genital spot of *variolarius*, for this character belongs exclusively to one sex; whereas nearly all the "sex-limited" characters of authors are inherited in some generations by a definite number of the opposite sex.

The only exceptions which we recall are the cases of exclusively female characters in certain species of butterflies, *Colias philodice*, *Colias edusa* and *Papilio memnon*. In *Colias*, for example, the females have either yellow or white wings, whereas the wings of the males are always yellow. White wings, therefore, in this species, are an exclusively female character, very much as the genital spot of *E. variolarius* is an exclusively male character, with the important difference, that the spot of *variolarius* is characteristic of all the males, whereas white wings are not characteristic of all the females of *C. philodice*, the females having either white wings or yellow wings.

These two sex-limited characters have another feature in common. The spot of *variolarius* can be transmitted through the female when she is crossed with a species which has no spot, and the white wings of these butterflies can be transmitted through the yellow-winged male.

These facts in the butterflies have been explained by GEROULD 1911, on the assumption that white wings are dominant in the females, and recessive in the males; but this does not explain the fact that white wings are completely absent from all the F_2 males, whereas theoretically they should be present in 25 per cent of these males. GEROULD suggests a possible explanation on the assumption that for some reason the males that have the white wings do not survive. This solution of the difficulty is criticised by GOLDSCHMIDT ('12), who attempts to explain the fact by theoretical assumptions of his own.

He assumes:

First: that each sex has the factors for both sexes.

Second: that the female is heterozygous for the male sex, and homozygous for her own sex[1]).

Third: that the male is homozygous for both sexes.

Using the letter G to designate the factor for the female secondary sexual characters, and the letter A for the factor for the male secondary sexual characters, his formulae for the two sexes are as follows:

♀ F F G G M m A a
♂ F F G G M M A A.

[1]) His assumption that the female is heterozygous for the male sex has no morphological support from the chromosomes, which in these forms are very unfavorable for the determination of this important point.

He assumes that F and G are linked, that M and A are linked, and that m and a are linked, and expresses this by writing his formulae as follows:

♀ (F G) (F G) (M A) (m a)
♂ (F G) (F G) (M A) (M A).

He simplifies these formulae by dropping F and M, thus:

♀ G G A a
♂ G G A A.

He designates a mutation in the female secondary sexual character (the above-mentioned white wings, for example) by G′, and assumes that

G′ is dominant to G.

He assumes further that A is dominant to G. (»A über G epistatisch ist.«)

Applying his scheme to the case of *Colias*, Goldschmidt shows that in three different combinations of his theoretical factors, the expected results are in accord with Gerould's facts:

First: On the assumption that the wild female *Colias* is heterozygous for the factor for white wings, and that it is absent in the male.

Second: On the assumption that the male is heterozygous for the factor for white wings, and that it is absent in the female.

Third: On the assumption that both male and female are heterozygous for the factor for white wings. Although in this last case the ratio of white or yellow wings in the female is not in accord with the demands of his formula, he believes this discrepancy will be corrected by more data.

On page 84 Goldschmidt gives three more combinations of his theoretical factors; these remaining to be tested by experimental breeding.

These three combinations theoretically demand that all the females should have white wings, and in these cases, therefore, white wings are an exclusively female character, for they are characteristic of all the females, just as the genital spot of *variolarius* is characteristic of all the males. It is evident, then, that if Goldschmidt's scheme can theoretically explain the results of our cross-breeding experiments with *Euschistus*, one of these three combinations must be used, for no scheme can be of value for the *variolarius* hybrids that is not applicable to the pure form

also, and the theoretical demands of all the above three combinations are in accord with the facts of pure *variolarius* to a certain extent, for they theoretically demand that the character shall be a constant feature of the sex to which it is limited.

The three formulae are based on the following assumptions:

Formula No. 1. The male is homozygous for the white wings factor, and the female is without this factor.

Formula No. 2. The male is homozygous for the white wings factor, and the female is heterozygous for this factor.

Formula No. 3. Both male and female are homozygous for the white wings factor.

As the genital spot of *variolarius* is a male character, instead of a female character, GOLDSCHMIDT's scheme must be adapted as follows:

First: The factor for the spot must be linked with A instead of G (A′ instead of G′).

Second: G must dominate A instead of the reverse.

Third: The male must be heterozygous for the female sex, instead of the female being heterozygous for the male sex.

To test the working of formula No. 1 for pure *variolarius*, we must make the female, instead of the male, homozygous for the factors for the genital spot, for No. 1 assumes that the sex that is homozygous for white wings, is homozygous also for sex, thus: ♀ G G A′ A′ × ♂ G g A A.

This formula obviously will not fit *variolarius*, for the spot is a constant male character and therefore the male must be either heterozygous or homozygous for the spot factors.

To test the working of formula No. 2 for pure *variolarius* we must make the female (instead of the male) homozygous for the factors for the genital spot, and the male (instead of the female) heterozygous for the spot factors, thus: ♀ G G A′ A′ × ♂ G g A′ A.

This formula would not work for *variolarius*, because half the males and half the females from such a pair would be heterozygous for the spot factors, and 25 per cent of the males from these heterozygous pairs would be without the spot.

Formula No. 3 when applied to pure variolarius, works out as follows:

	♀		♂
Soma	G G A′ A′	×	G g A′ A′
Gametes	G A′		G A′
			g A′
Zygotes	G G A′ A′ (no spot)		G g A′ A′ (spot).

As the formula is always the same in the F_1 zygotes as in the parents, it is evident that in all subsequent generations the spot will be absent in all the females, and present in all the males, which is in accord whit the facts; but when we apply the same formula to the cross between *variolarius* and *servus*, the facts are clearly out of harmony with the theoretical demands.

As Goldschmidt's formula (No. 3) is the only one that works with pure *variolarius*, we must adopt it for the *variolarius* female used for the cross, thus: ♀ G GA′ A′ and as *E. servus* never has a spot on the male genital segment, the formula for *servus* must be ♂ G g A A, as follows:

	♀ *variolarius*	♂ *servus*
Soma	G G A′ A′	G g A A
Gametes	G A′	G A
		g A
Zygotes	G G A′ A (no spot)	G g A′ A (spot).

Results expected: All the males should have the spot.

Facts: All the males do not have the spot (2 of the 11 F_1 males have no spot whatever, and none of the remaining 9 have the spot as strong as *variolarius*: it is present from a mere indication of a spot, to a spot about one third as strong as that of pure *variolarius*).

Obviously, it will not help the situation if we vary the formula for the male, and the formula for the female cannot be altered, for it is the only formula of Goldschmidt's that will work for pure *variolarius*.

It therefore seems quite clear that Goldschmidt's formulae are inadequate as a theoretical explanation of the results of our cross-breeding experiments with *Euschistus*.

In spite of persistent effort we have been unable to harmonize our results with any of the ingenious schemes we have seen offered as theoretical explanations of the transmission of characters that are inherited exclusively by one sex, or belong to the so-called sex-linked groups.

We are considering two appearances, the genital spot of *variolarius* and absence of spot of *servus*, and each of these characters can be transmitted to the offspring. We have shown from the back cross p. 496, that one of these exclusively male characters (the genital spot) can be transmitted directly from the male and therefore through the so-called male producing spermatozoon. Further, the offspring of this back cross show, not only the inheritance of the spot from the pure *variolarius* father but they also show the influence of the heterozygous (F_1) mother.

The lower two specimens of photo 62 and the lowest specimen of photo 66 (Foot and Strobell '14) show only a very faint and small *variolarius* spot, and thus the inheritance of the *servus* character (absence of spot) is clearly demonstrated. The F_1 female inherited this *servus* character through her pure *variolarius* mother, whose eggs were fertilized by the male *servus*, therefore it was conveyed to them by the so-called female-producing spermatozoon of *servus*. Thus we have evidence from this back cross that one of these two exclusively male characters (the genital spot) can be transmitted by the male-producing spermatozoa and the other male character (the absence of spot) can be transmitted by the female-producing spermatozoa, therefore these two types of spermatozoa do not differ functionally in their transmission of an exclusively male character, and it may well be questioned whether they differ in their transmission of exclusively female characters.

Appendix[1].

After this paper was sent to press a notice of our results appeared in the following publications: "Heredity and Sex" — Morgan (13) and "Chromosomes, Heredity and Sex", Doncaster Q. J. M. Sci. Vol. LIX (14).

Doncaster disposes of our results in a footnote, as data irrelevant to a paper entitled "Chromosomes, Heredity and Sex — A Review of the Present State of the Evidence with Regard to the Material Basis of Heredity Transmission and Sex-Determination".

From his report of the evidence he draws the following conclusion:

"The facts of sex-limited[2]) transmission thus support the hypothesis that both ordinary Mendelian factors and the sex-determining factor or factors are borne by chromosomes", p. 511, and in the above mentioned footnote he adds: "The recently published work of Foot and Strobell cannot be used as an argument against this proposition. They have shown (as was previously known in birds and moths) that a secondary sexual character in Hemiptera can be transmitted through the sex that does not show it; but the character was not sex-limited[2]) in transmission; their results, therefore, have no bearing in the present discussion". As opposed to this decision we claim that the very fact that the genital spot is not linked with one of the so-called sex chromosomes is a point that

---

[1]) The italics are ours.

[2]) Sex-limited is used by Doncaster in the sense that sex-linked is used by Morgan.

calls for a satisfactory explanation by those who believe in sex-determining chromosomes, and our results cannot be cancelled by a dogmatic assertion that they have no bearing on the subject.

Morgan treats the facts with more consideration and attempts to give an explanation of them, though his explanation appears to us more as an attempt to excuse the facts than to explain them. Part of his explanation is merely a restatement of our conclusions and the remainder is not in harmony with the facts.

We concluded that our results demonstrate that the spot can be transmitted without the X or the Y chromosome and Morgan accepts this as follows, "these results may be explained on the assumption that the factors lie in other chromosomes than the sex-chromosomes".

We concluded that if one assumes (for the sake of the argument) that the spot factors are in a diploid pair of chromosomes, it becomes necessary to assume other factors outside the chromosomes. We called such hypothetical factors "inhibiting factors" and we said of them — "We are forced to admit that inhibiting factors — whatever they are — must be located outside the chromosomes — in the region of pure hypothesis."

Morgan appears to accept this, calling such hypothetical factors "things in the cell", and symbolizing them as A.B.C. He says "the result (or character) that a factor produces depends on its relation to other things in the cell, (here A.B.C.)" and he adds, "We are dealing, then, not with the relation of X to S alone, but this relation in turn depends on the proportion of both X and S to A.B.C."

In the above quoted paragraph he includes in his explanation the assumption of a relation between the spot factors and the X chromosome and this we believe is a part of his explanation which is not sustained by the facts. The spot can be transmitted directly from the male to his male offspring — and therefore this must be by the male-producing spermatozoon — (if there is such a thing) and the so-called male-producing spermatozoon has no X chromosome. It is impossible to believe that in such cases the inheritance of the spot is dependent upon the relation of the spot factors of the sperm to the X chromosome in the egg, especially if the cross is made with a pure *servus* egg. Morgan evidently thinks this is possible, however, for in his explanatory diagram he illustrates a cross between *E. servus* ♀ × *E. variolarius* ♂, a cross which we explained we were unable to attempt on account of scarcity of material.

His diagram, if assumed to be an explanation based on the facts of our experiments, is further in error in its illustration of the F_1 hybrids. In his simple Mendelian scheme all the F_1 hybrids are illustrated as typical heterozygotes and the fact is ignored that two out of the eleven of our F_1 hybrids are like *servus* in having no spot. If such a modification of the spot can be caused by "other things in the cell", it would seem that merely calling these "A.B.C." is no explanation of the results.

Morgan excuses his attempted explanation on the ground that we have failed to explain our results. We make no apology for this. We believe the duty of the scientist is to curb the natural temptation to force an explanation of individual results, for science to-day is overburdened by premature and undigested generalizations. We would aim rather to follow the example of those scientists who are willing patiently and conscientiously to collect data sustained by the hope that some day the facts may be of value.

Both Morgan and Doncaster class the genital spot of *variolarius* with the secondary sexual characters of authors and they therefore interpret our results as not having the bearing on the theories of sex-determination which we claim for them.

Now our claim has been that the genital spot of *variolarius* is an integral part of the male genital segment — the structure of the female genital segment being such that the spot could not be present in this segment without changing the form of the segment itself — and we have claimed that therefore a study of the transmission of the genital spot should give a trustworthy indication of the method of transmission of the entire genital segment.

This claim that the method of transmission of the genital spot should be an index of the method of transmission of the genital organs of the male, has been completely justified by further work on these hybrids. We quote the following from the appendix of a paper now in press (Foot and Strobell [14]).

"Since this paper was finished, striking corroborative support has been given to the results of our experiments. In expressing to Professor Poulton our desire to find an experienced Entomologist who would look over the parent species of our hybrids for some distinguishing character, (other than the genital spot) that might give additional evidence in support of our experiments, Professor Poulton kindly suggested Dr. Harry Eltringham of New College, Oxford. We feel very grateful to Professor Poulton for his interest and courtesy in this matter, and

we are deeply indebted to Dr. Eltringham for his very valuable discovery of the marked difference in the length of the intromittent organ of *E. variolarius* and *E. servus*. As a result of his observations, we have been able to follow out the inheritance of this second exclusively male character in the hybrids from this cross, as well as from the cross between *E. variolarius* and *E. ictericus*.

A full description of these results will be published shortly, in connection with Dr. Eltringham's description of his work on the parent species".

Bibliography.

Arkell and Davenport. '12. Are Horns in Sheep a Sex-limited Character? Science, March 8. 1912.

Castle, E. W. '09. A Mendelian View of Sex-Heredity. Science, N. S., Vol. XXIX.

—— '12. The Inconstancy of Unit-characters. Amer. Naturalist.

Child, C. M. '12. The Process of Reproduction in Organisms. Biol. Bull. Vol. XXIII.

Federley, Harry. '13. Das Verhalten der Chromosomen bei der Spermatogenese der Schmetterlinge Pygaera anachoreta, curtula und pigra, sowie einiger ihrer Bastarde. Zeitschr. f. induk. Abstamm. u. Vererb.-Lehre. Bd. IX. Hft. 1 u. 2.

Foot, K. and E. C. Strobell. '01. A New Method of Focussing in Photomicrography. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. XVIII.

—— '05. Prophases and Metaphase of the First Maturation Spindle of Allolobophora Foetida. Amer. Journ. Anat. Vol. IV. Nr. 2.

—— '13. Preliminary Note on the Results of Crossing two Hemipterous Species with reference to the Inheritance of an Exclusively Male Character and its Bearing on Modern Chromosome Theories. Biol. Bull. Vol. XXIV. Nr. 3.

—— '14. The Results of Crossing Euschistus variolarius and Euschistus servus with Reference to the Inheritance of an Exclusively Male character. VII Plates of Photographs. Proc. Linn. Soc. London. Vol. XXXII.

Gerould, F. H. '11. The Inheritance of Polymorphism and Sex in Colias philodice. Amer. Nat. Vol. XLV.

Goldschmidt, Richard. '12. Bemerkungen zur Vererbung des Geschlechts, Polymorphismus. Zeitschr. f. induk. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre. Bd. VIII. Hft. 1 und 2.

Guyer, Michael F. '09b. The Accessory Chromosome in the Domestic Chick. Anat. Anz. Bd. XXXIV. Nr. 22 u. 24.

Montgomery, Th. H. '06. "Chromosomes in the spermatogenesis of the Hemiptera heteroptera." Trans. Amer. Philos. Soc. Vol. XXI.

Morgan, T. H. '11. "An Attempt to Analyze the Constitution of the Chromosomes on the Basis of Sex-limited Inheritance in Drosophila." Journ. Exp. Zool. Vol. XI. Nr. 4.

Punnett, R. C. '11. Mendelism. The Macmillan Company.

Wilson, E. B. '06. Studies on Chromosomes III. The Sexual Differences of the Chromosome groups in Hemiptera, with Some Considerations on the Determination and Inheritance of Sex. Journ. Exp. Zool. Vol. III. Nr. 1.

—— '12. Studies on Chromosomes VIII. Observations on the Maturation-Phenomena in Certain Hemiptera and Other Forms, with Considerations on Synapsis and Reduction. Journ. Exp. Zool., Vol. XIII. Nr. 3.

Explanation of Plate.

Plate XXXVI.

The photographs were taken by our method of focussing described by Foot and Strobell '01, and in all cases the magnification of each photograph on the plates is 1000 diameters (Zeiss 2 mm. apo. immer. lens. com. oc. 4).

The photos are from smear preparations, and in the chromosome groups of each photograph every chromosome of the group is demonstrated. The reproductions are bromide prints.

Photos 1—9. *E. variolarius.*

Photos 1 and 2. Late prophase chromosomes of the first spermatocyte mitosis. In photo 1 the X Y chromosomes appear well separated on the right periphery of the group. In photo 2 they appear as a tetrad on the left periphery of the group.

Photos 3 and 4. Metaphase chromosomes of the first spermatocyte mitosis. In photo 3 the X Y chromosomes are below the bivalents and are dividing as univalents, and in photo 4 also each is dividing as a univalent, while the autosomes are dividing as bivalents.

Photos 5—8. Metaphase chromosomes of the second spermatocyte mitosis. In each of the 4 groups the X Y chromosomes are clearly distinguished on account of their inequality in size. On the left periphery of photo 6 are shown two of the autosomes apparently constricting off a small particle of their chromatin, as described on p. 492.

Photo 9. Telophase of the second spermatocyte mitosis. The chromosome groups of the two spermatids show the X chromosome in the center of the left group and the Y chromosome in the center of the right group.

Photos 10—15. *E. servus.*

Photos 10—12. Metaphase chromosomes of the first spermatocyte mitosis. In each of the 3 groups the X Y chromosomes are nearly in contact and are clearly distinguished from the autosomes. Each is dividing as a univalent while the autosomes are dividing as bivalents.

Photos 13—15. Metaphase chromosomes of the second spermatocyte mitosis. The X Y chromosomes are nearly in the center of each group and are easily identified on account of their inequality in size, which is fully as marked as the inequality in size of the X Y chromosomes of *variolarius.* (Compare photos 10—15 with photos 1—9.) We have selected these photographs of *servus* from material that was collected in both Texas and North Carolina. Photos 10, 14 and 15 are from North Carolina specimens and photos 11—13 from Texas material.

Photos 16—23. The First Generation of Hybrids (F_1) from
E. variolarius ♀ × *E. servus* ♂.

Photos 16 and 17. Late prophase chromosomes of the first spermatocyte mitosis. In both photographs the X Y chromosomes are clearly differentiated from the autosomes. Both X and Y are preparing to divide as individuals while the autosomes are prepared to divide as bivalents.

Photos 18—23. Metaphase chromosomes of the second spermatocyte mitosis. In each of the six groups the X Y chromosomes are easily identified and show the typical features of both parents.

Photos 24—31. The second Generation of Hybrids (F_2).

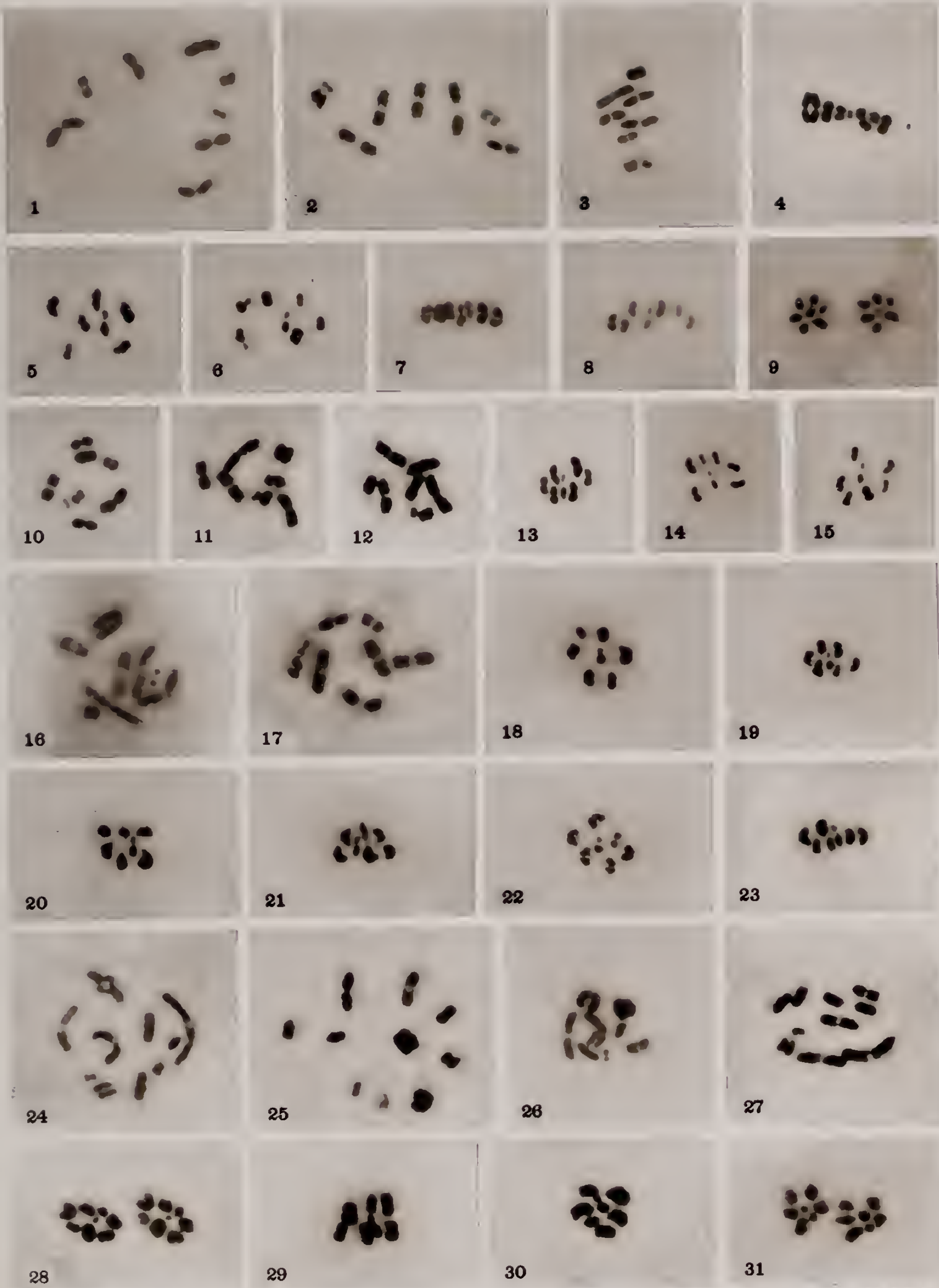
Photo 24. Prophase chromosomes of the first spermatocyte mitosis. The X Y chromosomes are almost in contact on the lower periphery of the group. Their method of division is clearly indicated, each preparing to divide individually. On the upper periphery of the group one of the autosomes appears as a cross — a form sometines seen in both *variolarius* and *servus*.

Photos 25—27. Late prophase or metaphase chromosomes of the first spermatocyte mitosis. In photo 25 the X Y chromosomes are widely separated, the Y chromosome being on the lower periphery of the group and the X chromosome on the right periphery. On the left periphery the two halves of one of the autosomes are far apart, probably due to the technique. In photo 26 the X Y chromosomes are sharply differentiated from the autosomes, the X chromosome indicating clearly a longitudinal division. The two halves of one of the autosomes are far apart. The relative size of the X chromosome to the autosomes shows an irregularity which is sometimes seen both in *variolarius* and *servus*. In photo 27 the X Y chromosomes are almost in contact on the lower periphery of the group. On the upper left periphery the two halves of one of the autosomes are apart.

Photo 28. Telophase of the first spermatocyte mitosis. In the center of each group is one half of the Y chromosome, a clear demonstration of its division in the first mitosis. The halves of the X chromosomes can be identified as the smallest in the circle of chromosomes. All the autosomes appear as dyads.

Photos 29 and 30. Metaphase chromosomes of the second spermatocyte mitosis. In each of the two groups the X Y chromosomes are in contact and can be clearly recognized by their inequality in size.

Photo 31. Telophase of the second spermatocyte mitosis. The chromosome groups of the two spermatids show the X chromosome in the center of the right group and the Y chromosome in the center of the left group. Compare these spermatids with those of *variolarius* in photo 9.



Foot & Strobell photos.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin.

Sulla fine struttura delle cellule endoteliali dell'endocardio e delle cellule che tappezzano le fenditure di Henle.

Per

Francesco Speciale,

Interno.

(Dall' Istituto di Anatomia umana normale della R. Università di Palermo, diretto dal Prof. R. Versari.)

Con 4 Figure nel Testo.

Scopo delle ricerche che formano l'oggetto di questa breve nota è stato quello di stabilire se nelle cellule endoteliali dell' endocardio ed in quelle che tappezzano le fenditure di Henle si riscontra l'apparato reticolare interno descritto da Golgi ed in seguito da molti altri osservatori nella maggior parte degli elementi cellulari. E però ho trattato col ben noto metodo Golgi piccoli pezzi dell'endocardio e miocardio di cavia. Riferirò brevemente i risultati ottenuti.

Nelle cellule dell' endocardio (fig. 1—2) il metodo anzidetto mette in evidenza granuli piccoli rotondeggianti, distribuiti per tutto il corpo cellulare. Oltre a tali granuli disseminati si riscontra generalmente un mucchio di granuli addossato ad un punto della periferia del nucleo. Questi ultimi granuli sono intimamente uniti ed è quindi difficile il poterli distinguere l'uno dall'altro. In qualche cellula invece di un mucchio di granuli si vede come un tenue filamento, più o meno aggrovigliato, lungo il quale sono disposti granuli a corona di rosario: in qualche cellula ancora si ha un filamento di calibro uniforme avvolto su se stesso.

Nelle cellule a nucleo ovoidale che tappezzano le fenditure di Henle (fig. 3—4), è riscontrabile la presenza di granuli disseminati che contornano più o meno regolarmente il nucleo. Inoltre ad un polo del nucleo si vede una formazione intensamente impregnata col nitrato di argento

e che esaminata a forte ingrandimento appare o come un filamento di calibro non uniforme, che segue per un certo tratto il contorno del nucleo,

Fig. 1. Fig. 2.



Fig. 1. Cellule endoteliali dell' endocardio di Cavia. Metodo Golgi all' acido osmico. Oc. 3. Ob. 1/12 immers. omog. Fig. 2. Una cellula endoteliale dell' endocardio Cavia. Metodo come sopra. Oc. 8 compens. Ob. 1/12 immers. omog.

o come un bastoncino tozzo intensamente colorato, o come un vero e proprio anello.

Fig. 3.



Sezione trasversa del miocardio di Cavia. Metodo come sopra. Oc. 3. Ob. 1/12 immers. omog.

Riassumendo, nelle cellule endoteliali dell' endocardio ed in quelle che tappezzano le fenditure di Henle, si mettono in evidenza con il metodo

Fig. 4.



Cellule che tappezzano le fenditure di Henle. Oc. 8 compens. Ob. 1/12 immers. omog.

Golgi, due formazioni distinte: l'una è rappresentata da granuli disseminati nel corpo cellulare, l'altra è rappresentata da un filamento o da un anello e talora anche da un bastoncino più o meno lungo. Quanto alla interpretazione di queste due formazioni, io ritengo, che, basandoci

sul loro aspetto morfologico, si debbono interpretare i granuli come formazioni plastosomiali mentre il filamento, più o meno aggrovigliato, e gli anelli si debbono considerare come un vero e proprio apparato reticolare interno, più o meno modificato. Questi reperti portano quindi ad ammettere che, contrariamente all'opinione sostenuta da alcuni autori, i plastosomi e l'apparato reticolare interno siano due formazioni distinte. Essi si accordano con le ricerche di Perroncito il quale ha riscontrato le due formazioni anzidette in uno stesso elemento cellulare, con quelle di Luna, il quale nella fibra muscolare cardiaca mise in evidenza attorno al nucleo plastosomi ed apparato reticolare interno, e finalmente con quelle di Sanchez il quale, confermando pienamente le ricerche di Luna, riscontrò nella fibra muscolare di sanguisuga delle formazioni granulari e bacillari che interpretò come plastosomi ed apparato reticolare interno.

Bibliografia.

Domingo Sanchez y Sanchez. Sobre la estructura intima de la fibra muscular en los invertebrados. Erabayos. 1913.

Luna. Sulla fine struttura della fibra muscolare cardiaca. Arch. für Zellf. Bd. VI.

Perroncito. Contributo allo studio della biologia cellulare. Acc. dei Lincei, seduta del 6 Marzo, 1910.

Über die Spermatogenese von Schistosomum haematobium Bilh. (Bilharzia haematobia Cobb.) mit besonderer Berücksichtigung der Geschlechtschromosomen.

Von

Erwin Lindner.

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Mit 1 Textfigur und Tafel XXXVII—XXXVIII.

Inhaltsverzeichnis.

Einleitung.

In den verschiedensten Gruppen des Tierreichs wurden Geschlechtschromosomen und Beziehungen derselben zur Zweigeschlechtigkeit festgestellt. Auch für den zwittrigen Zustand ergaben sich solche (Schleip, Boveri, Demoll).

Durch alle bisherigen Untersuchungen über die Entwicklung der Geschlechtszellen bei Trematoden wurde gezeigt, daß ihre Eier wie ihre Spermatozoen dieselben Chromatinverhältnisse aufweisen. Untersucht

wurden *Polystomum integerrimum* von GOLDSCHMIDT, *Dicrocoelium lanceatum* von DINGLER und GOLDSCHMIDT, *Fascicola hepatica* von SCHELLENBERG, *Zoogonus mirus* von GOLDSCHMIDT, A. und K. E. SCHREINER, GRÉGOIRE und WASSERMANN und neuerdings *Brachycoelium salamandrae* von v. KEMNITZ.

Es war nun denkbar, daß *Schistosomum*, die einzige getrenntgeschlechtliche Form in der völlig zwittrigen Trematodengruppe doch vielleicht zweierlei Spermatozoen bildete und daß das Geschlecht des aus der Befruchtung hervorgehenden - Produktes von der Art des verwendeten Spermatozoons abhängig sei. Es war von Interesse, damit zeigen zu können, wie in einer Tiergruppe, in welcher Hermaphroditismus und Gonochorismus nebeneinander stehen, dieser Spaltung in zwei Abteilungen, auch das Fehlen und Vorhandensein von Geschlechtschromosomen entsprechen, der Gonochorismus also offenbar in engster Abhängigkeit von dem Auftreten von Geschlechtschromosomen steht.

Von diesem Gesichtspunkt aus riet mir Herr Professor GOLDSCHMIDT, die chromosomalen Verhältnisse und Beziehungen der beiden Geschlechter von *Schistosomum* zu untersuchen.

Die Arbeit wurde im zoologischen Institut in München ausgeführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinen hochverehrten Lehrern, Herrn Geheimrat RICHARD V. HERTWIG für das lebhafte Interesse, mit welchem er den Fortgang meiner Arbeit überwachte, und Herrn Professor RICHARD GOLDSCHMIDT für seinen mir oftmals wertvollen Rat meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Daß ich so wertvolles Material untersuchen konnte, verdanke ich Herrn Professor LOOSS in Kairo, der es Herrn Professor GOLDSCHMIDT zur Verfügung gestellt hatte.

Herrn Dr. KATSUCKI, der aus Japan *Schistosomum japonicum* besorgte, das jedoch für meine Zwecke leider zu ungünstig konserviert war, danke ich auch an dieser Stelle bestens für seine Bemühungen.

Leider konnte ich meine Arbeit nicht in dem Umfange durchführen, in dem sie beabsichtigt war. Von vornherein mußte ich auf die Untersuchung der Keimzellenentwicklung im weiblichen Geschlecht verzichten, da die Verhältnisse in der weiblichen Keimdrüse so ungünstig waren, daß es unmöglich war, die geringe Zahl gut fixierter Tiere erfolgreich zu verwerten. Weiteres Material ließ sich nicht beschaffen.

Ungünstige Momente bot auch die männliche Keimdrüse insofern, als eine Einteilung des Hodeninhalts in Zonen völlig fehlte und als alle Elemente von außergewöhnlicher Kleinheit waren.

Günstig war die verhältnismäßig geringe Chromosomenzahl.

Literatur über Schistosomum.

Bilharz selbst, der Entdecker der *Sch. haematobium*, wie auch Leuckart (1863) konnten als Hodeninhalt nichts weiter finden als »immer nur eine körnigzellige Masse und keine Samenfäden«.

Looss betont, daß der Inhalt der Hodenbläschen aus denselben Gründen, die ich oben bereits angeführt habe, sehr schwer zu analysieren ist. Er gibt eine Darstellung des Prozesses der Spermatozoenbildung, »jedoch nur unter aller Reserve«. Er beschreibt Kerne von 0,0028 bis 0,0056 mm Durchmesser mit dem verschiedensten Chromatininhalt, hat jedoch wichtige Stadien nicht gesehen; nach seiner eignen Angabe hat er ein lockeres Knäuelstadium beobachtet, doch ist es ihm nicht geglückt, »irgendwelche andre Phasen einer Teilungsfigur aufzufinden«.

Material und Technik.

Das kostbare Material hatte ich, wie bereits mitgeteilt, aus Ägypten erhalten.

Es sei mir hier gestattet, zu einer systematischen Frage Stellung zu nehmen. Die von mir untersuchten Tiere waren zum größeren Teil *Schistosomum haematobium* Bilharz, die aus den Darm- und Blasenvenen von Ägyptern stammten, zum kleineren Teil *Sch. bovis* Sons., Exemplare, die aus den Mesenterialvenen von Sudanrindern gesammelt waren.

Letztere Form ist etwas größer, sonst konnte ich keinen Unterschied feststellen. Vor allem konnte kein solcher, wie aus einigen meiner Abbildungen auch hervorgeht, in dem Chromatinbestand wahrgenommen werden.

Sonsino, der 1876 die neue Art *Sch. bovis* beschrieb, fand selbst keine wesentlichen Unterschiede der beiden Arten. Er stellte nur fest, daß *Sch. bovis* etwas größer und dicker ist und allerdings, daß die Form der Eier eine ganz andre ist wie bei *Sch. haematobium*. Wenn dieser Unterschied wirklich besteht, so ist gegen die Aufstellung einer neuen Art nichts einzuwenden. Das Ei von *Sch. haematobium* soll die Form der Schalendrüse annehmen (Fritsch). »Diese hat die Gestalt einer oben leicht zugespitzten Frucht auf kurzem Stiel.« »Die fertigen Eier erhalten einen Seiten- oder einen Endstachel.« Vergleicht man mit dieser Darstellung die Abbildung, die Sonsino 1876 vom Ei von *Sch. bovis* gegeben hat, so kann eine große Ähnlichkeit der beiden Eiformen nicht geleugnet werden. An lebendem Vergleichsmaterial müßte sich die Frage sofort entscheiden lassen. Ich konnte solches nicht untersuchen.

Mein Verdacht, daß es sich um ein und dieselbe Art handelt, gründet sich auf drei Punkte: Einmal ist die Beschreibung von Sonsino (1876) doch schon ziemlich alt. Dann sind die übrigen Unterschiede der beiden Formen sehr geringfügiger Natur; vor allem ist die Chromosomenzahl ein und dieselbe. Und schließlich dürften sich in Ägypten Mensch und Vieh doch wohl auf dieselbe Weise mit dem Parasiten infizieren, ganz gleich, auf welche Art das nun geschieht. Es ist dieser Punkt ja noch nicht ganz aufgeklärt. Vielleicht gelingt es einmal dem Experiment, diese Frage, und damit auch die systematische zu lösen.

Ich werde bei der Darlegung meiner Befunde nur von einer Art sprechen und nur in der Erklärung der Abbildungen auch die andre (*Sch. bovis*) berücksichtigen.

Mein Material war leider nicht so gut fixiert, wie wünschenswert erschien. Der Umstand, daß einige Tiere ziemlich gute Verhältnisse aufwiesen, in andern jedoch statt voneinander geschieden Plasma und Chromatin, nur eine mehr oder weniger trübe Masse in den Geschlechtszellen zu finden war, läßt vermuten, daß viele Tiere erst als sie schon tot waren, fixiert worden waren.

Die Fixierung war zum Teil mit Sublimat, zum Teil mit Formol geschehen. Beide Fixierungsmittel waren an und für sich brauchbar; das zeigen einige gut erhaltene Tiere der einen wie der andern Fixierungsart. Daß die größere Menge nicht mehr verwendbar war, mag daran liegen, daß sie wahrscheinlich nicht rechtzeitig genug fixiert worden war.

Je nach der Fixierung mit Sublimat bzw. mit Formol wurde mit Hämatoxylin Heidenhain-Eosin oder mit Hämatoxylin Delafield gefärbt. Andre Färbemethoden versagten, so z. B. Magenta, zum Teil wegen der Art der Fixierung.

Alle Schnitte fertigte ich in einer Dicke von 5 μ an.

Anatomie — Topographie.

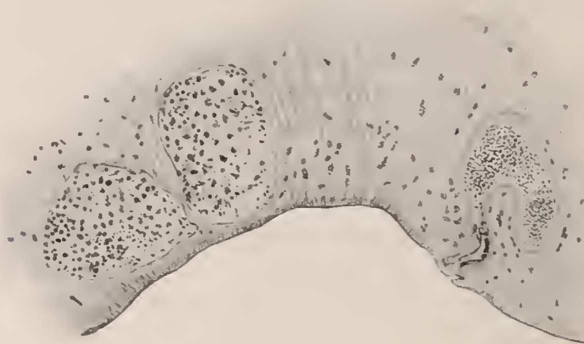
Da ich durch das Studium meines Materials mit der Anatomie von *Sch. haematobium* näher bekannt wurde, möchte ich die Kenntnis über das männliche Geschlechtssystem in Kürze darstellen und ergänzen. Leuckart (Parasiten, 1. Auflage) beschreibt die Hoden folgendermaßen: »Sie erscheinen als rundliche Blasen von etwa 0,12 mm Durchmesser, die sechs bis acht an der Zahl, der Länge nach etwas alternierend aneinander gereiht sind und den Zwischenraum zwischen den Darmschenkeln einnehmen. Ein Cirrusbeutel mit Samenblase ist nicht vorhanden.«

Später konnte Leuckart (Parasiten, 2. Auflage) eine wesentlich bessere Darstellung geben. Er erkannte den Hodenapparat als einen

zickzackförmigen Kanal, der sich dorsal zu mehreren aneinanderstoßenden Blasen ausstülpt. Der Ausführungsgang zieht dann vom vordersten Hodenbläschen ventral nach vorn, wendet sich dorsal nach rückwärts und schwillt zur Vesicula seminalis an. Von ihrem hinteren Ende geht der Ductus ejaculatorius ventral zum Porus genitalis. Er liegt in der Medianebene, und zwar in einer Entfernung hinter dem Bauchsaugnapf, die dem Durchmesser desselben entspricht.

Die dichte Auskleidung des Canalis gynaecophorus mit durch Hämatoxylin stark färbbaren Stacheln tritt im Umkreis des Porus genitalis zurück und fehlt am Porus selbst vollständig.

Textfigur.



Ein äußerst günstiger Schnitt durch Vesicula seminalis, Ductus ejaculatorius und Porus genitalis setzt mich in die Lage, die Verhältnisse wie sie Looss auch in einer Abbildung wiedergibt, zu ergänzen (s. Textfigur). Der Ductus ejaculatorius mündet wohl auf einer niedrigen Erhebung nach außen, doch ist das, was als solche gewöhnlich erkannt wird, ein ringförmiger Wulst, der über der eigentlichen Endigung des Ductus ejaculatorius einen Hof bildet und bei der Begattung offenbar weit geöffnet und dabei vorgestülpt werden kann. Dieser Zustand ist durch die Looss'sche Abbildung dargestellt. Es besteht also doch eine Art Begattungsapparat.

Was Looss sonst über den histologischen Aufbau des Genitalapparates sagt, kann ich nur bestätigen, besonders was das cuticulaartige Aussehen der Auskleidung von Ductus ejaculatorius und Vesicula seminalis betrifft.

Deutlich ist auf dem in meiner Textfigur abgebildeten Schnitt auch zu sehen, wie im unteren Teil der Hodenbläschen nur Spermatozoen sich

befinden und wie dieser untere Raum von dem oberen offenbar durch eine Art Filter, welches eben nur die Spermatozoen durchläßt, geschieden ist. Durch enge Öffnungen stehen die aufgeblasenen Teile des Hodenkanals auf der Ventralseite, da wo sie zusammenstoßen, miteinander in Verbindung, so daß bis zur Vesicula seminalis ein kontinuierlicher Weg, ein Vas deferens, besteht.

Nicht bestätigen kann ich die Angaben andrer Autoren, daß die Vesicula seminalis immer fast ganz leer sei. Im Gegenteil, ich fand sie häufig mit Spermatozoen gefüllt.

Die Spermatozoen scheinen ziemlich beweglich zu sein; sie finden sich im ganzen Hoden und mögen wohl zum Teil durch eine ständige Bewegung des Hodeninhalts den Mangel jeglicher Zoneneinteilung verursachen. Jugendliche Spermatogonien, reife Spermatozoen, überhaupt alle möglichen Stadien finden sich in buntem Wechsel, und Schwesterzellen können kurz nach der Teilung schon sehr weit voneinander entfernt sein, was für die Untersuchung nicht gerade angenehm ist.

Die Spermatogonienteilungen.

Von einer eigentlichen Wandung oder peripheren Wandschicht der Hodenbläschen kann nicht gesprochen werden. Diese bilden vielmehr Hohlräume im Parenchym, das in dieser Gegend etwas dichter geschichtet erscheint; einzelne lange Faserzüge umgeben die Hodenbläschen konzentrisch und sie sind es auch, welche die Wandung bilden. Die Kerne sind in diesen Schichten ebenfalls langgestreckt (Fig. 1) und liegen oft in ziemlich großer Menge nahe beisammen. Teilungen konnte ich hier keine beobachten.

Die Ursamenzellen rücken allmählich aus der Wandung gegen das Innere der Hodenbläschen vor und bilden so linsenförmige Vorwölbungen (Fig. 2). Auf diesem Stadium ist das Chromatin gewöhnlich auf einige unregelmäßige Schollen und Stränge verteilt. Außerdem sind ein oder zwei Nucleolen vorhanden. In letzterem Fall ist fast immer ein deutlicher Unterschied in der Größe sowohl wie auch in der Chromatizität zu bemerken. Ob in diesen Unterschieden bereits die Vorbereitung zur Bildung von zweierlei Samenzellen zu erblicken ist, wage ich nicht zu entscheiden.

Je weiter die Loslösung der Ursamenzellen von der Wandung fortschreitet, desto regelmäßiger wird das Chromatin verteilt (Fig. 3 u. 1). Es ist dies die erste Vorbereitung zur ersten Spermatogonienteilung im Hoden. Wieviel solcher stattfinden, läßt sich nicht bestimmen, da die junge

Spermatogonie in der übrigen Masse sofort untertaucht und da alle Stadien im Hoden durcheinander liegen und während sämtlicher Teilungen die Teilprodukte vollständig getrennt werden.

Es ist deshalb auch unmöglich, eine lückenlose Reihe der Vorgänge bis zur ersten Reifeteilung wiederzugeben.

Vor der Spermatogonienteilung verdichtet sich das Chromatin zu größeren Partikeln unter Auflösung der Nucleolen (Fig. 4 u. 5). Allmählich entstehen daraus Stränge, die rosenkranzförmig segmentiert erscheinen. Die Anzahl der Segmente beträgt mehr wie die Normalzahl, offenbar die doppelte. Ich muß also darin bereits den Beginn einer Spermatogonienteilung erblicken, zumal ich nirgends sonst etwas finden konnte, was eine entsprechende Deutung gestattete (Fig. 7).

Ob wähernd der Metaphase erst noch eine Konzentration der Chromosomen zu einer Äquatorialplatte stattfindet (Fig. 8) oder ob Bilder wie das wiedergegebene überhaupt keinem natürlichen Vorgang entsprechen, muß ich dahingestellt sein lassen. Die Gestalt des Zellkörpers hat ja nicht viel zu besagen. Immerhin lassen sich eine »Tochterplatte« mit ungefähr 14 Chromosomen und darunter eine mit wohl derselben Zahl unterscheiden. Fig. 9 ist schon etwas weiter fortgeschritten, wenn es auch sehr schwer ist, darin die beiden Tochterplatten zu unterscheiden. Die Gesamtzahl der vorhandenen Chromosomen läßt sich mit ziemlicher Sicherheit auf die doppelte Normalzahl, also 28 schätzen.

In Fig. 10 liegen die aus einer derartigen Teilung hervorgegangenen Tochterzellen vor, und zwar dürfte es sich in diesem Fall um die letzte Spermatogonienteilung handeln.

Ob wir es in Fig. 11 mit der Äquatorialplatte einer Spermatogonienteilung oder mit einer Anaphase der ersten Reifeteilung zu tun haben, erscheint mir zweifelhaft. Wahrscheinlicher ist letzteres. Hierfür spricht die Chromosomengröße; vor allem die Größe der paarweise beieinander liegenden Chromosomen ist auffallend. Klar ist das Bild deshalb nicht, weil etwas abseits von den eben betrachteten Chromosomen zwei bis drei Gebilde liegen, die nicht ohne weiteres als Chromosomen angesehen werden können, eher wohl als Fremdkörper.

Fig. 12 dürfte aber sicher eine Anaphase einer Spermatogonienteilung darstellen.

Nachdem ich nachgewiesen hatte, daß die Zahl der Chromosomen bei der Spermatogonienteilung 28 beträgt, suchte ich auch für das weibliche Geschlecht die Normalzahl festzustellen. Ich fand jedoch in meinem ganzen Material nur ein paar Zellen mit je acht Chromosomen, also wahrscheinlich Ovocyten (Fig. 13).

Die Spermatocyten I. Ordnung bis zur ersten Reifeteilung.

Wenn ich im folgenden versuche, eine Reihenfolge der Vorgänge während des Wachstumstadiums zu beschreiben, so will und kann ich damit nicht Anspruch erheben, eine vollkommen klare Folge wiederzugeben, wie das wohl möglich gewesen wäre, wenn mir besseres Material zur Verfügung gestanden hätte.

Die Deutungen, zu denen ich bei meinen Untersuchungen gelangt bin, gründen sich vor allem auf Einzelbefunde, die ich mit entsprechenden Bildern und Beschreibungen andrer Autoren verglich.

Nach der letzten Spermatogonienteilung tritt der Kern in ein Ruhestadium ein (Fig. 14). Das Chromatin ist in Form kleiner Schollen auf einem Reticulum verteilt. Außerdem ist gewöhnlich ein Nucleolus vorhanden, manchmal ist aber auch keiner aufzufinden und dieser Dimorphismus beherrscht auch die folgenden Stadien. Beide Fälle kommen in ein und demselben Hodenbläschen vor.

Allmählich ordnet sich das Chromatin in Fadenform an (Fig. 15, 16 u. 17).

Ob hier anfangs ein kontinuierliches Spirem vorliegt oder ob einzelne dünne Schleifen wirr durcheinanderliegen, wie das die Anhänger der Parallelkonjugation fordern (v. Winiwarter 00, Janssens 05, A. und K. E. Schreiner 06, Grégoire 10), konnte ich nicht feststellen. Auch hier wurde bei einem Teil der Spermatocyten ein, bei einem andern kein Nucleolus beobachtet.

Fig. 18 läßt schon ziemlich deutlich einzelne Schleifen erkennen, deren sich eine gewisse Ordnung bemächtigt.

Es folgen nun Fig. 19, 20, 21 und 22. Bezüglich der Nucleolen möchte ich nur auf eine Möglichkeit hinweisen. Ich habe den Eindruck gewonnen, als werde dann, wenn in der Spermatogonie zwei Nucleolen vorhanden waren, einer mit übernommen in die Spermatocyte. Ist dagegen in der Spermatogonie nur ein Nucleolus vorhanden, so fehlt in der von ihr abzuleitenden Spermatocyte ein solcher. Die Spermatocyte in Fig. 15 stammt also von einer Spermatogonie mit zwei Nucleolen.

Was die Streitfrage betrifft, ob die Synapsis wirklich einem natürlichen Zustand des Kernes entspricht oder ob sie eine Schrumpfung, hervorgerufen durch unsre Fixierungsmittel darstellt, so kann ich mit meinem Material dazu unmöglich Stellung nehmen. Immerhin neige ich der Ansicht zu, daß wir in Fig. 19 und in Fig. 22 die echte Synapsis, die Synizesis, in Fig. 21 dagegen wenigstens eine durch Kontraktion verdorbene Synizesis zu sehen haben.

Eine andre Frage ist die nach der Art der Konjugation der Chromosomen. Findet Meta- oder Parasyndese statt oder spricht etwas für die Berechtigung der Faltungstheorie?

Goldschmidt gibt für die von ihm untersuchten Trematoden Metasyndese an, A. und K. E. Schreiner sowie Grégoire finden bei einem derselben, nämlich bei *Zoogonus mirus* Parallelkonjugation, während der jüngste Untersucher Wassermann sich wieder zur Metasyndese bekennt. Dingler beschreibt auch für *Dicrocoelium lanceolatum* Parallelkonjugation in der Spermatogenese, während Goldschmidt in der Ovogenese die Metasyndese darstellt.

Ich muß bei meinem Material auch hier wieder gestehen, daß es mir keine sehr weitgehenden Schlüsse erlaubt. Immerhin spricht von allem, was ich bei *Sch. haematobium* gesehen habe, nichts für eine Metasyndese und weniges für eine parallele Chromosomenkonjugation. Das Wenige sind zwei Bilder, die denen, die A. und K. E. Schreiner und Janssens gegeben haben, entsprechen (Fig. 23 und Fig. 24). Sie fallen durch ihre typischen Y-Figuren auf. Im ersteren Fall liegen an einem Pol der Zelle die meisten Pachytänschleifen fertig vor. Nur einige bandförmig aussehende Gebilde ragen aus diesem Gewirr noch hervor, und zwar laufen zwei schwächere zweifellos zu einem stärkeren zusammen. Das fertige Pachytänstück zeigt gleichmäßige Dicke und Färbung, die beiden noch nicht vereinigten Leptotänschleifen dagegen sehen aus, als hätten sie sich bandförmig verbreitert und dadurch, daß sie sich an verschiedenen Stellen etwas gedreht haben, erscheinen sie nicht gleich breit und nicht überall gleich stark gefärbt. Ein Nucleolus ist in diesem Bilde nicht sichtbar.

Der andre Fall (Fig. 24) ist noch auffälliger. Wieder haben wir an einem Pol der Zelle die Mehrzahl der fertigen Pachytänschleifen — allerdings etwas stark verklumpt — vor uns. Aus diesem Haufen ragen noch einige dünne Leptotänschleifen hervor, vor allem aber zwei dicke, kurze Gebilde, die an ihren Enden je zwei etwas divergierende, dünne Leptotänfäden tragen. Mitten in dem Bukett ruht ein ziemlich blaß gefärbter Nucleolus.

Das Aussehen der Leptotänschleifen, die hier vereinigt werden, ist etwas verschieden von dem derjenigen des andern Falles. Von einer Bandform kann man hier nicht gut sprechen; es sind vielmehr Fäden von stellenweise verschiedener Dicke. Besonders dünn erscheinen sie dort, wo sie zur Pachytänschleife vereinigt werden, so dünn im Vergleich zu dem dicken Pachytänstück, daß man unmöglich annehmen kann, daß durch bloßes Aneinanderlegen zweier Leptotänschleifen eine Pachy-

tänschleife gebildet wird. Vielleicht spielt da doch der eine der beiden Nucleolen eine Rolle.

Daß zwischen Chromosomen und Chromatinnucleolen ein Zusammenhang besteht, ist die Ansicht vieler Forscher. R. und O. Hertwig, Flemming und Korschelt sind von einem solchen überzeugt. Die Bildung bzw. die Abgabe der Chromosomen aus dem Nucleolus geben für Echinodermen Hartmann (02), Wilson (01a, 01b), Günther (04), Jordann (10) und Retzius (10) an. Auch für andre Objekte ist derartiges beschrieben, so für *Batrachoceps* von Janssens (05), für *Aphis saliceti* von v. Baehr (09). Was die Fälle bei Echinodermen betrifft, so glaubt Buchner (11) allerdings, daß es sich um Beobachtungsfehler handelt.

Für uns muß natürlich von Interesse sein, was über diesen Punkt bisher bei Trematoden festgestellt wurde.

Goldschmidt (02) erkennt für *Polystomum* einen Zusammenhang zwischen Nucleolus und Chromosomengenese. Auch für *Zoogonus* spricht er sich dahin aus, daß der Nucleolus zum mindesten am Aufbau der Chromosomen beteiligt ist. Dasselbe findet Schumann (05) für *Fasciola*. Zu denselben Resultaten wie Goldschmidt kommen für *Gyrodactylus* v. Janicki (03) und Kathariner (04). v. Kemnitz gelangt auf Grund seiner färberischen und morphologischen Befunde bei *Brachycoelium* ebenfalls zu dem Schluß, daß »die Chromosomen der Mitose einen Teil ihrer Substanz von den Chromatinnucleolen beziehen und umgekehrt«. Dieselbe Anschauung verteidigen neuerdings auch Federley (13) für die Spermatogenese von *Pygaera* und Browne (13) für die Spermatogenese von *Notonecta*.

Die Zahl der Autoren, die demgegenüber den entgegengesetzten Standpunkt vertreten, einen innigeren Zusammenhang zwischen Chromosomen und Nucleolus also leugnen, ist eine verhältnismäßig kleine. So glaubt Halkin (01), der wie Goldschmidt *Polystomum* untersuchte, besagten Zusammenhang bestreiten zu müssen. Derselben Ansicht sind Lillie (06), Vejdowsky (07), Braun (09) und Matschek (10).

Was nun meine eignen Untersuchungen betrifft, so sehe ich mich, wie schon angedeutet, gezwungen, den Nucleolen bei der Chromosomenentwicklung eine sehr wesentliche Rolle beizumessen. Fig. 24 läßt sich wohl so erklären, daß der Nucleolus bei der Konjugation Substanz an die Leptotänschleifen abgibt und wenn es auch nur eine Art Bindemittel sein sollte. Er braucht dabei nicht völlig abgebaut zu werden.

Der Lehre von der Individualität der Chromosomen würde dies kaum Eintrag tun; glauben doch Boveri (04), Häcker (07), Jörgensen

(10), v. Kemnitz (13) gerade die Rolle des Achromatins besonders betonen zu müssen.

Daß die konjugierenden Leptotänschleifen in Fig. 23 verschieden von denen im andern Fall aussehen, kann, wenn es sich auch nicht beweisen läßt, seinen Grund darin haben, daß hier der Chromatinbestand bezüglich der Beteiligung der Nucleolen von vornherein ein andrer war. Denn es ist hier auf diesem Stadium kein Nucleolus mehr vorhanden und es finden sich auch sehr oft leptotäne Buketts ohne Nucleolus. Anderseits scheint ein Nucleolus sehr lang persistieren zu können. Auf Bildern, wie Fig. 25, machen die Pachytänschleifen einen vollkommen fertigen Eindruck und doch ist noch ein ziemlich stark chromatischer Nucleolus vorhanden, der offenbar wenigstens den »Grundstock« zum Nucleolus des Ruhekernes bildet (Fig. 36). Manchmal sieht es aus, als stände er in unmittelbarer Verbindung mit einer der Schleifen, als sei er an sie wie eine Perle an einen Faden gefaßt. Und dann finden sich ganz dicke Pachytänschleifen (Fig. 26), in deren Umgebung kein Nucleolus mehr liegt, die aber merkwürdig ungleichmäßig dick sind und oft den Eindruck erwecken, als nähmen sie eben die letzten Reste des Nucleolus auf. Fig. 28 gibt einen Kontraktionszustand des Buketts vor der Auflösung der Chromosomen wieder. Ich habe nur dies eine, kein ähnliches Bild gefunden. Höchstens läßt sich Fig. 29 in die Nähe stellen. Es leitet über zu Fig. 26, in welcher die Chromosomen bereits in Auflösung begriffen sind. Noch weiter ist dieser Prozeß in Fig. 30 fortgeschritten. Der Nucleolus ist in diesem Falle viel kleiner als in vorigem, dafür allerdings stärker chromatisch, ein Unterschied, der vielleicht durch das verschiedene Schicksal während der Vorgänge auf früheren Stadien bedingt ist.

In fertigen, typischen Ruhekernen finden sich dann ein größerer oder zwei kleinere, etwas verschieden chromatische Nucleolen (Fig. 33 und Fig. 32.).

Das übrige Chromatin zieht sich in ziemlich gleichmäßigen Strängen über die Oberfläche des Kernes und steht mit den Nucleolen in häufigem Zusammenhang. Auch diese liegen dicht unter der Oberfläche der Kerne, wie das auch Dingler für *Dicr. lanceatum* angibt. Ein Hervortreten des Nucleolus über die Oberfläche konnte ich allerdings nicht beobachten. Fig. 32 zeigt bereits den Beginn der Auflösung des Ruhekerns, in Fig. 36 ist von einem Nucleolus kaum mehr etwas zu erkennen. In die Nähe ist Fig. 35 zu stellen. Man kann hier bereits Andeutungen für die späteren charakteristischen Formen der Prophasenchromosomen erkennen. Einen weiteren Fortschritt zeigt Fig. 34.

Daß es sich auch bei meinen Y-förmigen Chromosomen um früh-

zeitige Aufspaltungen der Chromosomen handeln könnte — es ist dies der Einwand, welchen Meves und Fick den entsprechenden Angaben von Janssens und A. und K. E. Schreiner entgegenbringen — kann ich nicht annehmen, weil sich die spätere Form der Chromosomen sehr schwer in Einklang damit bringen läßt.

Alle Chromosomen zeigen bei der Teilung dasselbe Verhalten. Daß eines oder mehrere Heterochromosomen besondere Wege gehen, konnte nicht beobachtet werden.

Die Pachytänschleifen sind der Verschiedenheit der späteren Chromosomen entsprechend von sehr verschiedener Länge und lassen sich deshalb in ihren kleinsten Vertretern sehr schwer beobachten.

Die Zahl der Schleifen läßt sich ziemlich genau auf acht feststellen (Fig. 26). Es ist die Zahl der Chromosomen, die wir in der Äquatorialplatte zur ersten Reifeteilung wiederfinden.

Wirklich gute Prophasenbilder konnte ich nur sehr wenig feststellen.

Ein schönes Bild haben wir dann in Fig. 27 vor uns. Es zeigt, wie die bivalenten Chromosomen der Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung gebildet werden. Die Form, in welcher das geschieht, entspricht dem, was von den verschiedensten Objekten bekannt ist. Nur drei Chromosomen lassen noch ihre Zusammensetzung aus zwei Teilen erkennen. Die andern haben bereits die Gestalt angenommen, in welcher sie in die Äquatorialplatte eintreten. Man kann darin bereits die Anordnung der Chromosomen, wie sie für die Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung charakteristisch ist, erkennen: zwei kleine, runde Chromosomen liegen in der Mitte. Ich möchte bemerken, daß ich dieses schöne und völlig einwandfreie Bild nur ein einziges Mal gesehen habe.

Erste Reifeteilung.

Die klarsten und auch die auffallendsten Bilder aus dem ganzen Hodeninhalt stellen die Äquatorialplatten der ersten Reifeteilung dar. Auf Flächenschnitten erhält man immer dasselbe Bild: acht Chromosomen, von denen zwei kleine immer von den andern sechs eingekreist erscheinen. Selten liegt ein kleines Chromosom noch dem Kreis selbst eingereiht; ebenso selten ist eines der zu den sechs Außenchromosomen gehörigen innerhalb des Ringes noch anzutreffen. In letzterem Falle ist es gewöhnlich das kleinste Chromosom. Die beiden kleinsten Chromosomen dokumentieren sich so schon durch ihre Lage als etwas Besonderes. Es sind, wie im folgenden gezeigt werden soll, zwei Heterochromosomen, zwei X-Chromosomen.

Die sechs Außenchromosomen sind von verschiedener Größe. Das kleinste ist zuweilen kleiner als die beiden gleich großen Heterochromosomen. Die Größe der andern kann bis zur achtfachen Größe des kleinsten betragen. Bestimmte Reihenfolge in der Anordnung im Kreis scheint nicht eingehalten zu werden, wenn auch meist die beiden größten Chromosomen sich gerade gegenüberliegen und die beiden kleinsten Autosomen auf einer Seite der beiden größten zu liegen scheinen.

Der Längsspalt der sechs bivalenten Chromosomen ist meist sehr deutlich. Es werden offenbar dieselben Elemente, die sich in der Prophase (Ringfiguren) vereinigt haben, wieder getrennt.

Ich zweifle nicht, daß die erste Reifeteilung die Reduktionsteilung ist. Es ist an den Dyaden während der ganzen Entwicklung bis zur zweiten Reifeteilung keine Spur eines Querspalts oder überhaupt eines zweiten Spalts, sondern eben nur in der Anaphase der Längsspalt sichtbar. Schleip hat für einen Nematoden, *Angiostomum nigrovenosum*, festgestellt, daß die erste Reifeteilung für die Autosomen reduktionell, für die Heterochromosomen aber äquationell ist, und K. Mulsow (18) wagt deshalb bei seinem herrlichen Objekt *Ancyracanthus cystidicola* Rud. nicht zu entscheiden, welche der beiden Reifeteilungen die Autosomen reduziert.

Die Verteilung der Chromosomen auf die beiden Tochterzellen muß sehr rasch erfolgen, denn es gelang mir nicht, eine Anaphase in der Seitenansicht aufzufinden. Eine frühe Anaphase in Polansicht ist in Fig. 38 dargestellt. Sie läßt bei verschiedener Einstellung (schwarz und grau gezeichnet) erkennen, daß die sechs Autosomen auf beide Tochterplatten gleichmäßig verteilt werden, während die beiden univalenten Chromosomen beide in dieselbe Tochterplatte übernommen werden. In ihnen sind demnach 2 X-Chromosomen zu sehen. Ein paar andre Bilder (Fig. 39 *a* u. *b*) sind nicht so deutlich, sprechen aber nicht gegen vorigen Befund.

Äquatorialplatten der ersten Reifeteilung sind verhältnismäßig häufig. Äußerst klar ist die in Fig. 42 wiedergegebene. In der Mitte liegen die beiden univalenten, gleichgroßen Chromosomen. Um sie herum zieht sich der Kranz der sechs bivalenten. Daß sie bivalent sind, ist bei den vier größten mit aller Bestimmtheit zu erkennen. Sie zeigen einen deutlichen Längsspalt; das größte ist in der Spaltung hier wie immer in dieser Phase am weitesten voran. Die beiden kleinsten Autosomen zeigen noch kaum einen Längsspalt. Man könnte daraus den Schluß ziehen, daß sich die beiden »Innenchromosomen« schließlich doch noch spalten, daß der Vorgang bei ihnen nur der Beobachtung leicht entgeht, weil er bei ihnen, als den kleinsten der vorhandenen Chromosomen eben zuletzt sich abspielt, und spätere Stadien der ersten Reifeteilung, also fortge-

schrittene Anaphasen, sehr selten beobachtet werden konnten. Dieser Einwand wird aber entkräftet durch die Darstellung von Fig. 38 und, wie später gezeigt werden soll, vor allem durch die Befunde bei der zweiten Reifeteilung, die später noch eingehend behandelt werden.

Tochterzellen, d. h. Spermatocyten II. Ordnung mit sechs und acht Chromosomen konnten verhältnismäßig selten gefunden werden; offenbar folgt die zweite Reifeteilung unmittelbar auf die erste. Leider ist gerade bei der Beurteilung der Spermatocyten II. Ordnung eine gewisse Zurückhaltung sehr angezeigt; denn die in der Qualität der Fixierung, in der Kleinheit des Objektes, wie in der verschiedenen Größe der Chromosomen gegebenen Verhältnisse lassen es möglich erscheinen, daß ein kleines Chromosom durch ein großes manchmal verdeckt wird. Immerhin scheinen mir meine Beobachtungen zu genügen, um darzutun, daß zweierlei Spermatozoen existieren, solche mit sechs Chromosomen und solche mit acht in dem einen Fall und solche mit ausschließlich sechs Chromosomen in dem andern, feststehend sein. Fig. 41 gibt eine Spermatocyte II. Ordnung mit acht Chromosomen wieder. Fig. 40 zeigt eine Seitenplatte mit acht Chromosomen. Die Schwesterplatte ist in meinem Präparat nicht auffindbar. Die drei großen, rechts befindlichen Chromosomen dürften wohl zum Teil bereits Ausschnitte von Chromosomen der zweiten Platte sein. Es geht das aus ihrer Form und aus ihrer Größe im Vergleich zu den übrigen hervor. Ein Unterschied in der Färbung bei verschieden hoher Einstellung ist kaum zu erkennen.

Von einer achromatischen Struktur ist in den männlichen Geschlechtszellen nur sehr wenig zu erkennen. Nur in wenigen meiner Schnittserien finden sich Spermatocyten mit deutlichen Spindeln und Centrosomen; in andern gelang es auch durch verschiedenste Differenzierung nicht, irgendetwas davon nachzuweisen, ein Beweis dafür, daß das Material wohl schon vor der Fixierung zum Teil zu sehr gelitten hatte. Daß sonst von einer Plasmastruktur nichts Deutliches aufzufinden ist, ist in der Kleinheit des Objektes begründet.

In einem Präparat (Fig. 43) liegen mehrere Äquatorialplatten in Seitenansicht. Die Chromosomen sind zwar überall mehr oder weniger verklumpt, doch gibt das mit Eosin gefärbte Plasma dieser Spermatocyten ein klares Bild. Von einer Spindel ist kaum etwas wahrnehmbar, mit großer Regelmäßigkeit treten dagegen zu beiden Seiten der Äquatorialplatten Centriole als kleine schwarzgefärbte Pünktchen in die Erscheinung.

In diesen Fällen scheint aber die Spindel nicht einen ganzen Durchmesser der Zelle einzunehmen. Es liegen vielmehr die Centrosomen noch

ziemlich entfernt von der Oberfläche der Zelle. Nur ein paarmal gelang es mir, Spindel und Centrosom zusammen zu finden. Es ist in Fig. 44 dargestellt. Diesmal liegen jedoch die Centrosomen, die hier etwas größer erscheinen — genaue Größe läßt sich keine angeben — ganz an der Oberfläche und die Spindel durchzieht die ganze Zelle. Es ist möglich, daß dieses Stadium älter ist als die vorher beschriebenen mit der kürzeren Spindel. Die Äquatorialplatte macht nämlich in diesem Fall einen viel einheitlicheren Eindruck wie sonst, insofern, als kein Chromosom aus der Ebene der Platte hervorragt. Sonst erhielt ich gewöhnlich Bilder, wie solche auch andre Autoren für Äquatorialplatten von Objekten geben, bei welchen X-Chromosomen nachgewiesen werden konnten.

Diese X-Chromosomen zeigen ein besonderes Verhalten, indem sie »nachhinken«, entweder bei der Bildung der Äquatorialplatte — wie in meinem Falle — oder erst bei der Trennung der beiden Tochterplatten. Daß die anscheinend für sich verklumpten X-Chromosomen, die aus dem Metaphasenbild hervorragen, nicht bei der Teilung vorauseilen und so das frühste Stadium der Anaphase vorstellen, geht aus den schönen Äquatorialplattenbildern in Polansicht hervor, in welchen die beiden X-Chromosomen mit den übrigen immer in einer Ebene liegen, und auch aus Fig. 40.

In Fig. 46 sind die beiden isolierten, univalenten Chromosomen nicht nur in ihrer Lage außerhalb der Äquatorialplatte sehr gut sichtbar, sondern auch an ihrer geringen Größe leicht als die beiden Heterochromosomen zu erkennen.

Von einer Schleifenform oder Bügelform der Chromosomen von *Sch. haematobium* kann man nicht sprechen. Es sind mehr oder weniger runde Klumpen, wie die Äquatorialplatten, z. B. Fig. 47 und 41, zeigen. Wenn sich der Verband der bivalenten Chromosomen in der Äquatorialplatte löst, so erscheinen die beiden Tochterchromosomen der Anaphase zunächst ungefähr bohnenförmig und kleben mit je einem Ende, und zwar wohl immer mit dem der Zellmitte zugekehrten noch zusammen. In der Spermatocyte II. Ordnung treffen wir die Chromosomen wieder als runde kugelige Gebilde (Fig. 41).

Von der Seite sichtbare Anaphasen konnte ich nur wenige finden (Fig. 49). Während hier die Chromosomen ziemlich gut erhalten sind, ist das in Fig. 50 nicht der Fall.

Bemerken möchte ich dazu noch, daß die Zellgröße und dementsprechend auch die Chromosomengröße bei den verschiedenen Individuen sehr schwankend sind (Fig. 42 u. Fig. 52).

Zweite Reifeteilung.

Die morphologischen Verhältnisse der zweiten Reifeteilung scheinen dieselben wie die der ersten zu sein. Bei der Kleinheit der Spermatiden ist es sehr schwer, Äquatorialplatten zu finden bzw. als solche zu erkennen, denn der Größenunterschied der Chromosomen ist durch die Annahme der Kugelgestalt und die außerordentliche Kleinheit wenig auffällig. Wahrscheinlich findet auch eine Kontraktion des Chromatins statt und kommt dadurch ein weiterer Ausgleich der Chromosomengrößen zustande.

Eine Spermatocyte II. Ordnung mit acht Chromosomen ist in Fig. 41 wiedergegeben. Leider konnte ich die zugehörige Schwesterzelle nicht finden. Ich habe überhaupt in meinen sämtlichen Präparaten keine entsprechende Spermatocyte II. Ordnung mit sechs Chromosomen, freilich außer der einen wiedergegebenen auch keine weitere, so klare mit acht. Daß dies auch wirklich eine Spermatocyte II. Ordnung ist, geht aus dem Vergleich der Größenverhältnisse von Zelleib und Chromosomen dieser Zelle und denen der beiden daneben liegenden Metaphasen der ersten Reifeteilung deutlich hervor.

Etwas häufiger wie Metaphasen sind Anaphasen. Eine solche stellt Fig. 60 dar. Sie ist insofern von Bedeutung, als darin wenigstens noch einige Chromosomen in ihrem Zusammenhang zu sehen sind. Leider muß ich annehmen, daß ein Stück der Spermatocyte mit zwei Chromosomen abgeschnitten und unauffindbar ist. Die Chromosomenzahl der unverletzten Tochterplatte ist acht. Fünf sind völlig getrennt von ihren Schwesterchromosomen, drei hingegen hängen mit ihren Partnern noch zusammen und stellen so mit ihnen hantelförmige Gebilde dar.

Von einer Längsteilung der Chromosomen kann man nach diesem Bilde ebensowenig sprechen, wie von einer Querteilung, da die Mutterchromosomen in den Spermatocyten II. Ordnung ja den Eindruck vollkommen kugeliger Gebilde machen. Die Trennung erfolgt offenbar sehr schnell; ich finde kein ähnliches Bild.

In Fig. 61 ist die Trennung bereits vollkommen und wenn auch die Tochterplatten mit sechs Chromosomen in diesem Fall noch nicht deutlich voneinander abgegrenzt sind, am Zelleib ist bereits eine Einschnürung erkennbar.

In der Telophase Fig. 62 werden wieder je acht Chromosomen auf die Spermatiden verteilt. Die Chromosomen sind noch gut erhalten, trotzdem der Abstand der beiden Tochterplatten schon sehr groß ge-

worden ist. Die eine Tochterplatte ist leider durchschnitten, doch ergänzen sich die beiden Schnitte gut.

Bemerkenswert ist an den beiden Polen je ein kleines Pünktchen, das vielleicht dem Centrosom entspricht. Ich konnte es bei keiner andern zweiten Reifeteilung finden.

Fig. 63 gibt eine Telophase wieder, in welcher jedoch die Chromosomen nicht mehr zählbar sind. Es dürfte das in Zusammenhang mit der Art der Fixierung stehen, denn häufig sind die Chromosomen in der ersten Zeit noch in den Spermatiden zählbar wie in Fig. 74.

In Fig. 64 liegen zwei vorgerückte Telophasen mit sechs Chromosomen für jede Spermatide vor. Dasselbe ist in Fig. 61 der Fall und in Fig. 68.

Die Spermatide hat birnförmige Gestalt. Ob diese das Endresultat der Teilung ist oder ob sie ursprünglich anders aussieht und das Plasma dann erst diese Form annimmt, läßt sich schwer entscheiden. Ich konnte kein Stadium finden, in welchem zwei solche birnförmige Spermatiden mit ihren »Stielenden« noch in Zusammenhang waren. Anders aussehende Spermatiden sind ohne Beweiskraft, da es bei ihrer Kleinheit ausgeschlossen ist, einen darüber oder darunter befindlichen Protoplasmazipfel wahrzunehmen.

Daß es sich in dem Fall von Fig. 74 um eine ganz junge Spermatide handelt, geht daraus hervor, daß die acht Chromosomen noch vollkommen intakt sind.

Spermiogenese.

Die Chromosomen der Spermatiden wandern, ihre geschlossene Form verlierend, an das spitze Ende der Zelle (Fig. 75). Vielleicht wird nach der Teilung der Plasmakörper der Spermatide zunächst abgerundet, um dann erst, da wo das Chromatin liegt, sich in eine Spitze auszuziehen. Welche von beiden Möglichkeiten zutrifft, ist sehr schwer zu entscheiden, schließlich aber auch nicht wesentlich.

Die Chromatinmasse tritt zu einem unregelmäßig blumenkelchähnlichen Gebilde zusammen, das mit der Öffnung gegen den chromatinfreien Pol der Zelle gewendet ist (Fig. 76).

Der Kelch wird allmählich schmäler, das Chromatin kontrahiert sich und bildet Verbindungen zweischen benachbarten Kelchzipfeln, wie Fig. 77 zeigt. Auf diese Weise verwachsen die Kelchblätter seitlich immer mehr und wenn das Spermatozoon nach rückwärts, d. h. den »Schwanzfaden« voran den Restkörper verläßt, bestehen in der Kelchwand nur noch ein paar Fenster (Fig. 78). Ein Schwanzfaden scheint vorhanden zu sein,

wenn auch nur ein sehr kurzer. Er kann natürlich bei der Kleinheit der Spermien nur sehr dünn sein und wird daher kaum sichtbar. Das Mittelstück hebt sich nicht deutlich ab, sondern geht in den langgestreckten kommaförmigen Kopf über. Dieser Kopf scheint bei reifen Spermien gleichmäßig von chromatischer Substanz aufgebaut zu sein. Manche Bilder erwecken den Anschein, als sei er davon nur ausgekleidet. Besonders einige Querschnittbilder von Spermien sehen aus, als bilde das Chromatin nur einen Wandbelag im Innern des Spermienkopfes. Verstärkt wird dieser Eindruck durch das Vorkommen von Spermien mit chromatinfreien. Ausschnitten. Da solche Spermien neben ganz gleichmäßig dunkel gefärbten in der Vesicula seminalis gefunden werden, so ist anzunehmen, daß es sich um unreife Spermien handelt, die bereits in die Ausführwege der Hodenbläschen gelangt sind, also vor ihrer völligen Chromatinauskleidung die Restkörper verlassen haben.

Man könnte versucht sein, in diesen Erscheinungen einen Dimorphismus der Spermatozoen zu sehen. Es liegt hier aber sicher kein solcher vor, denn das Aussehen der Spermatozoen in der Vesicula seminalis ist zu verschieden. Neben gleichmäßig chromatischen finden sich solche, in welchen das Chromatin in zwei große Hälften geschieden ist; die eine liegt am spitzen Ende, also vor dem Mittelstück und ist durch eine vollkommen chromatinlose, breite Zone von der andern, vorn am Kopf gelegenen getrennt.

Das vordere Ende des Spermienkopfes erscheint etwas schief abgeschnitten, so daß also vorn eine scharfe Kante den Abschluß bildet. Natürlich ist diese Kante nur sehr selten rein seitlich zu sehen, wodurch dann das Bild einer feinen Spitze zustande kommt.

Trotz ihrer Kürze können sich die Spermatozoen offenbar stark abbiegen, so daß sie wie kleine Halbmonde aussehen (Fig. 80).

Zusammenfassung.

Der Hoden von *Schistosomum haematobium* Bilh. liegt dicht hinter dem Bauchsaugnapf. Er ist aus vier bis fünf aneinandergereihten Bläschen zusammengesetzt. Sie stehen in ihren unteren Teilen miteinander in Verbindung und münden mit einem gemeinsamen Vas deferens, das ventralwärts nach vorn führt, von unten und vorn in die Vesicula seminalis. Der Ductus ejaculatorius verläßt diese an ihrem hinteren Ende und mündet ventral auf einem Porus genitalis. Dieser kann durch eine muskulöse Vorrichtung bedeckt bzw. bloßgelegt werden.

Im Hoden lösen sich von der Wandung die jungen Ursamenzellen und treten in mehrere Teilungen — Spermatogonienteilungen — ein.

Dabei wird der Verband der Schwesterzellen nach jeder Teilung sofort vollständig gelöst.

Die Normalzahl der Chromosomen beträgt 14.

In die erste Reifeteilung gehen aber acht Chromosomen ein. Es sind sechs bivalente Autosomen und zwei univalente Heterochromosomen, die sich in der Äquatorialplatte durch ihre Lage in der Mitte auszeichnen und dadurch, daß sie die kleinsten unter den acht Chromosomen sind.

Bei der ersten Reifeteilung erhält eine Spermatocyte II. Ordnung acht Chromosomen, die andre sechs Chromosomen. Diese Teilung deute ich als die Reduktionsteilung.

Die zweite Reifeteilung — eine Äquationsteilung — hat Spermatiden mit acht und solche mit sechs Chromosomen zum Resultat.

Bei der Befruchtung werden also wahrscheinlich für das Männchen die Normalzahl $8 + 6 = 14$, für das Weibchen die Normalzahl $8 + 8 = 16$ zustandekommen.

Es ist somit wahrscheinlich gemacht — eine völlige Sicherheit gibt das schwierige Objekt nicht —, daß im Gegensatz zu den zwittrigen Trematoden die getrenntgeschlechtigen Geschlechtschromosomen besitzen.

Die Spermatozoen scheinen bereits im Hoden sehr beweglich zu sein. Ich schließe das aus dem Anteil, den sie an der Füllung der verschiedenen Hodenteile ausmachen. Sie sind von kommaförmiger Gestalt und lassen kaum eine Abgrenzung in drei Teile erkennen, sind vielmehr ziemlich gleichmäßig stark chromatisch.

In den Spermatogonien finden sich ein oder zwei Nucleolen. Wo zwei vorhanden sind, wird einer bereits im Leptotänstadium aufgebraucht; der andre scheint noch eine Rolle bei der Chromosomenkonjugation zu spielen.

Es findet anscheinend Parasyndese statt.

Literaturverzeichnis.

v. Baehr, W. B. Die Ovogenese bei einigen viviparen Aphididen und die Spermatogenese von Aphis saliceti usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. III. 1909.

Bonnevie, K. Chromosomenstudien I. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908a.

—— Chromosomenstudien II, usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. II. 1908b.

Boveri, Th. Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. Jena 1904.

—— Die Potenzen der Ascarisblastomeren. Festschrift f. R. Hertwig. Bd. III. Jena 1910.

Braun, H. Über die spezifischen Chromosomenzahlen der einheitlichen Arten der Gattung Cyclops. Arch. f. Zellforsch. Bd. III. 1909.

Braun, M. Trematoden. Bronns Klassen und Ordnungen.

—— Die tierischen Parasiten des Menschen. 1908.

Browne, E. Vicholson, A study of the male germ cells in Notonecta. Journal of Exper. Zool. Vol. XIV. 1913.

Buchner, P. Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellforsch. Bd. III. 1909.

—— Von den Beziehungen zwischen Centriol und Bukettstadium. Arch. f. Zellforsch. Bd. V. 1910.

—— Die Reifung des Seesterneies bei experimenteller Parthenogenese. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1911.

Dingler, M. Über die Spermatogenese des Dicrocoelium lanceolatum. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. 1910.

Doncaster, L. Gametogenesis of the Gallfly Neuroterus lenticularis. Proc. Roy. Soc. B. Vol. LXXXII. 1910.

—— Gametogenesis of the Gallfly Neuroterus lenticularis. Part. II. Proc. Roy. Soc. B. Vol. LXXXIII. 1911.

Federley, H. Das Verhalten der Chromosomen bei der Spermatogenese der Schmetterlinge Pygaera anachoreta, curtula und pigra sowie einiger ihrer Bastarde usw. Zeitschr. f. indukt. Abst. u. Vererb. Bd. IX. 1913.

Fick, R. Vererbungsfragen, Reduktions- und Chromosomenhypothesen, Bastardregeln. Merkel und Bonnets Ergebn. Bd. XVI. 1907.

—— Zur Konjugation der Chromosomen. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.

Fries, W. Die Entwicklung der Chromosomen im Ei von Branchipus Grub. usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. 1910.

Fritsch, Zur Anatomie der Bilharzia haematobia Cobb. Zool. Anz. 1885.

Goldschmidt, R., Untersuchungen über die Eireifung, Befruchtung und Zellteilung bei Polystomum integerrimum Rud. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXI. 1902.

—— Eireifung und Befruchtung und Embryonalentwicklung des Zoogonus mirus Lss. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXI. 1905b.

—— Über das Verhalten des Chromatins bei der Eireifung und Befruchtung des Dicrocoelium lanceolatum. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908a.

—— Ist eine parallele Chromosomenkonjugation bewiesen? Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908 b.

—— Die Chromatinreifung der Geschlechtzellen des Zoogonus mirus und der Primörtypus der Reduktion. Arch. f. Zellforsch. Bd. II. 1909.

—— Kleine Beobachtungen und Ideen zur Zellenlehre I. Accessorische Chromosomen und Geschlechtsbestimmung. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1910.

—— Einführung in die Vererbungswissenschaft. Leipzig 1911.

—— (Correns-Goldschmidt). Die Vererbung und Bestimmung des Geschlechts. Berlin 1913.

Grégoire, V. Les phénomènes synaptiques représentent-ils une caryocinèse avortée? La cellule. T. XXV. 1908.

—— La réduction dans le zoogonus mirus Lss. et le «Primär-Typus». La Cellule. T. XXV. 1909.

Gross, J. Heterochromosomen und Geschlechtsbestimmung bei Insekten. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXXII. 1912.

Gulick, A. Über die Geschlechtschromosomen bei einigen Nematoden nebst Bemerkungen über die Bedeutung dieser Chromosomen. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1911.

Günther, K. Über den Nucleolus im reifenden Echinodermenei u. seine Bedeutung. Zool. Jahrb., Anat. Bd. 1904.

Häcker, V. Über das Schicksal der elterlichen und großelterlichen Kernanteile usw. Jena. Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. XXXVII. 1902.

—— Die Chromosomen als angenommene Träger der Vererbung. Erg. und Fortschr. d. Zool. Bd. I. 1907.

—— Allgemeine Vererbungslehre. Braunschweig 1912.

Halkin, H. Recherches sur la maturation, la fécondation et le développement du Polystomum integerrimum. Arch. d. Biol. T. XVIII. 1901.

Hartmann, W. Studien am tierischen Ei. I. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XV. 1902.

Hertwig, R. Über den derzeitigen Stand des Sexualitätsproblems nebst eignen Untersuchungen. Biol. Zentralbl. Bd. XXXII.

v. Janicki, A. Beziehungen zwischen Chromatin und Nucleolen während der Furchung des Eies von Gyrodactylus elegans v. Nordm. Zool. Anz. Bd. XXVI. 1903.

Janssens, F. A. L'évolution des auxocytes mâles du Batrachoseps attenuatus. La Cellule. T. XXI. 1905.

Janssens, F. A. et Willems, J. Spermatogénèse dans les Batraciens. IV. La spermatogénèse dans l'Alytes obstetricans. La Cellule. T. XXV. 1908.

—— La théorie de la Chiasmatypie. Nouvelle interprétation des cinèses de maturation. La Cellule. T. XXV. 1909.

Jordan, H. E. A cytological study of the egg of Cumingia with special reference to the history of the chromosomes and the centrosome. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. 1910.

Jörgensen, M. †. Zellenstudien III. Arch. f. Zellforsch. Bd. X. 1913.

Katharirer, L. Über die Entwicklung von Gyrodactylus elegans v. Nordm. Zool. Jahrb. Suppl. Bd. VII. 1904.

v. Kemnitz, G. A. Eibildung, Eireifung, Samenreifung und Befruchtung von Brachycoelium salamandrae. Arch. f. Zellforsch. Bd. X. 1913.

Korschelt, E. Über Kernteilung, Eireifung und Befruchtung bei Ophryotrocha puerilis. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LX. 1895.

Lams, H. Les divisions des spermatocytes chez la Fourmi. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.

Leukart, R. Die menschlichen Parasiten. 1. Aufl. 1863, 2. Aufl. 1886.

Lillie, F. R. Observations and experiments concerning the elementary phenomena of embryonic development in Chaetopterus. Journ. exp. Zool. Vol. III. 1906.

Looss, A. Zur Anatomie und Histologie der Billharzia haematobia. Arch f. mikr. Anat. Bd. XLVI. 1895.

Markus, H. Ei und Samenreife bei Ascaris canis (Werner) (Ascaris mystax). Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXI. 1906.

Matschek, H. Über Eireifung und Eiablage bei Copepoden. Arch. f. Zellforsch. Bd. V. 1910.

Meves, Fr. Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung an Paludina und Pygaera. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXI. 1902.
—— Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX. 1907.
—— Es gibt keine parallele Konjugation der Chromosomen. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.
Montgomery, Th. H. jr. The spermatogenesis of Peripatus Balfouri up to the formation of the spermatid. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XIV. 1900.
Mulsow, K. Der Chromosomencyclus bei Ancyracanthus cystidicola Rud. Arch. f. Zellforsch. Bd. IX. 1912.
Nachtsheim, H. Cytologische Studien über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene (Apis mellifica L.). Arch. f. Zellforsch. Bd. XI. 1913.
Paulmier, F. C. The spermatogenesis of Anasa tristis. Journ. Morphology. Vol. XV. Suppl. 1899.
Popoff, M. Experimentelle Zellenstudien. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.
Retzius, G. Über den Bau der Eier der Echinodermen im unbefruchteten und befruchteten Zustand. Biol. Untersuchungen. Neue Folge. Bd. XV. Nr. 1. 1910.
Schellenberg, A. Ovogenese, Eireifung und Befruchtung von Fasciola hepatica L. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1911.
Schleip, W. Das Verhalten des Chromatins bei Angiostomum (Rhabdonema) nigrovenosum usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII. 1911.
—— Geschlechtsbestimmende Ursachen im Tierreich. Erg. Fortschr. Zool. Bd. III. 1912.
Schreiner, A. und K. E. Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. I. Die Reifung der männlichen Geschlechtszellen von Tomopteris onisciformis. Arch. d. Biol. T. XXII. 1906.
—— Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. V. Die Reifung der Geschlechtszellen von *Zoogonus mirus* Lss. Vidnskabs-Selskabts Skrifter I. Math.-Naturw. Klasse Nr. 8. 1908.
Schubmann, W. Über die Eibildung und Embryonalentwicklung von Fasciola hepatica. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXI. 1905.
Seiler, J. Das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Lepidopteren. Zool. Anz. Bd. XLI. 1913.
Sonsino, P. Intorno ad un nuovo parassito del buc. Rendic. dell' Acad. sc. fisiche e matem. Napoli ann. XV. 1876.
Tretjakoff. Die Spermatogenese bei Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXV. 1904.
Vejdovsky, F. Neue Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung. Kgl. Böhm. Ges. d. Wiss. Prag 1907.
—— Zum Problem der Vererbungsträger. Kgl. Böhm. Ges. d. Wiss. Prag. 1911/12.
Wassermann, F. Über die Eireifung bei Zoogonus mirus Lss. Sitzber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München 1911.
—— Zur Eireifung von Zoogonus mirus; ein Beitrag zur Synapsisfrage. Verhandl. d. Anat. Ges. 26. Vers. in München 1912.
Wassilieff, A. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX. 1907.

Wilson, E. B. Studies on Chromosomes III. The sexual Differences of the Chromosomes etc. Journ. of exper. Zool. Vol. III. 1906.

—— The Chromosomes of Metapodius, a contribution to the hypothesis of the genetic continuity of chromosomes. Journ. of Exp. Zool. Vol. VI. 1909.

—— Studies on chromosomes XII. Observations of the maturation phenomena in certain Hemiptera and other forms with considerations on synapsis and reduction. Journ. of Exp. Zool. Vol. XIII. 1912.

Tafelerklärung.

Alle Figuren wurden mit Hilfe des Zeichenapparats mit Zeiss Hom.-Imm. 1,5 mm und Komp.-Ok. 12 bei 150 mm Tubuslänge auf Tischhöhe gezeichnet. Die dazu verwendeten 5 μ dicken Schnittpräparate wurden teils mit Hämatoxylin Heidenhain-Eosin, teils mit Hämatoxylin Delafield gefärbt.

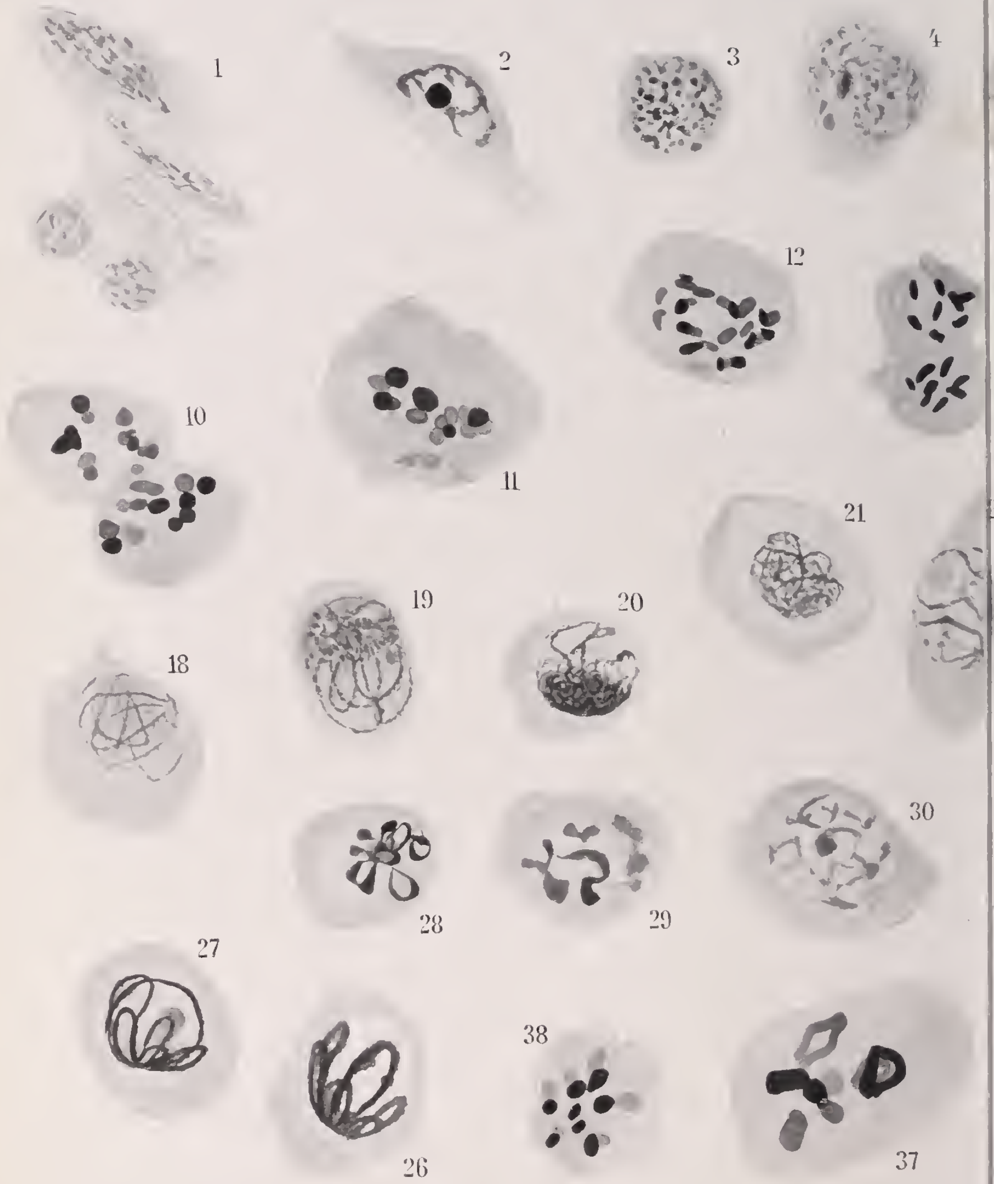
Tafel XXXVII.

Fig. 1 u. 2. Sich von der Hodenwand ablösende Spermatogonien.
Fig. 3—7. Vorbereitungen zur Spermatogonienteilung innerhalb des Hodens.
Fig. 8—12. Spermatogonienteilungen.
Fig. 13. Zwei Ovocyten?
Fig. 14. Ruhestadien der Spermatocyten I. O.
Fig. 15—17. »Spirem«.
Fig. 18—22. Leptotäne Bukettstadien.
Fig. 23 u. 24. »Parasyndese«.
Fig. 25—27. Pachytäne Bukettstadien.
Fig. 28—31. Auflösung der Pachytänschleifen.
Fig. 32 u. 33. Ruhekerne vor der I. Reifeteilung.
Fig. 34—37. Prophasenbilder zur I. Reifeteilung.
Fig. 38 u. 39. I. Reifeteilung, Anaphasen in Polansicht.
Fig. 40. I. Reifeteilung, Seitenplatte.

Tafel XXXVIII.

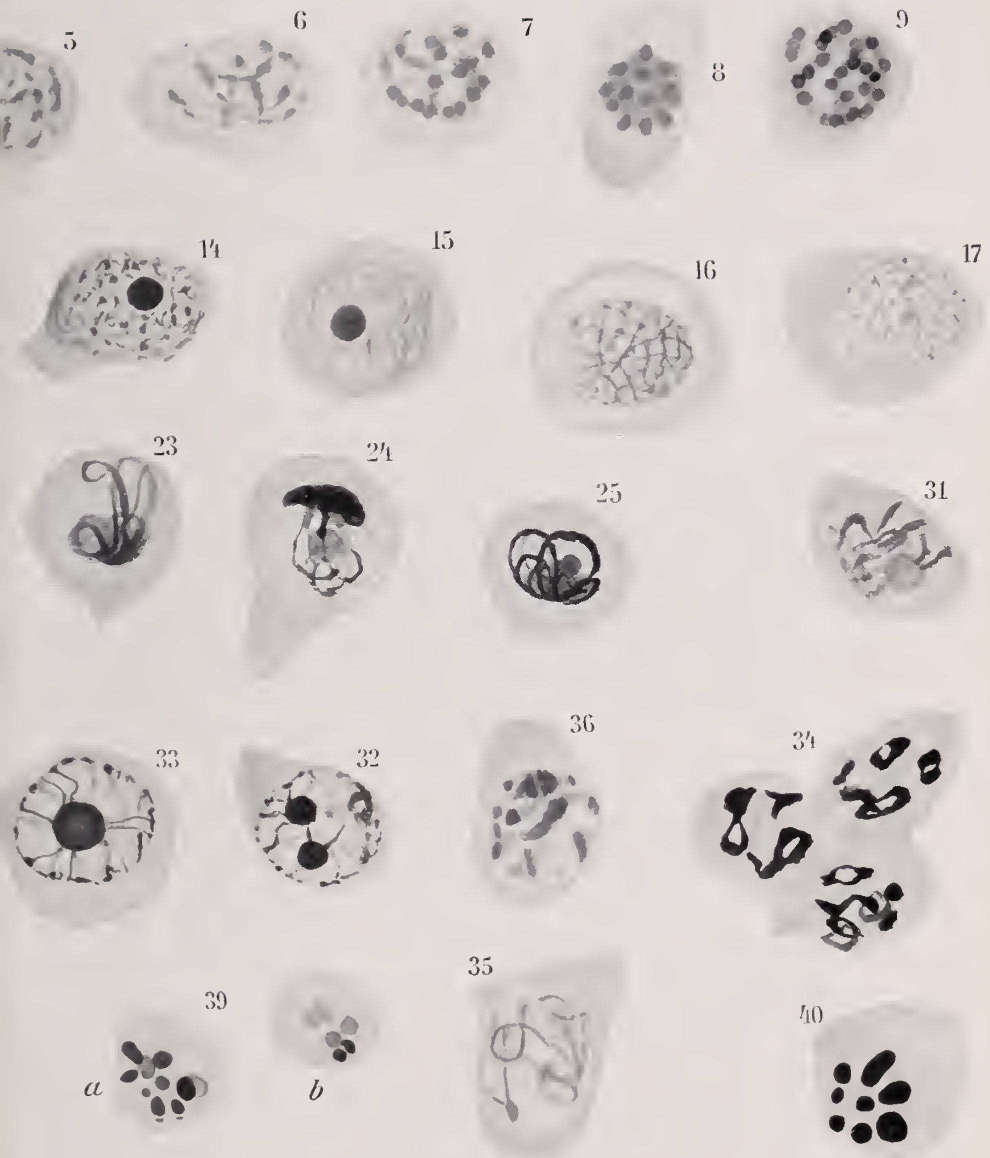
Fig. 41. I. Reifeteilung, zwei Äquatorialplatten und eine Spermatocyte II. O.
Fig. 42—59. I. Reifeteilung, verschiedene Stadien.
Fig. 60 u. 61. II. Reifeteilung. Anaphase.
Fig. 62—65. II. Reifeteilung. Telophase.
Fig. 66—70. II. Reifeteilung. Anaphase.
Fig. 71—79. Spermatiden.
Fig. 80 u. 81. Spermien.

Die Figuren 2—5, 18—20, 23—34, 43—45, 49—53, 59, 61—63, 65, 67 und 70—81 beziehen sich auf *Sch. bovis*, alle andern auf *Sch. haematobium*.

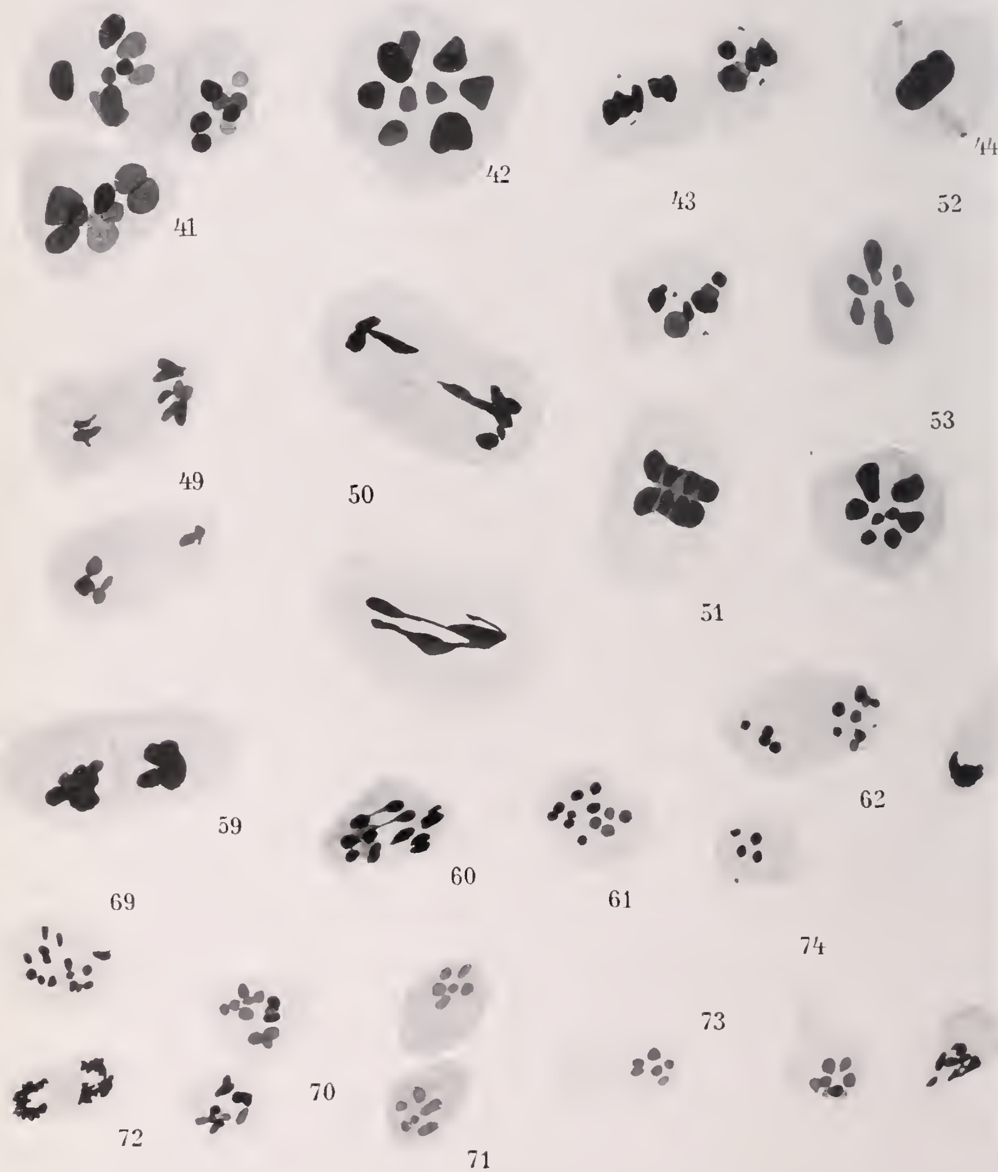


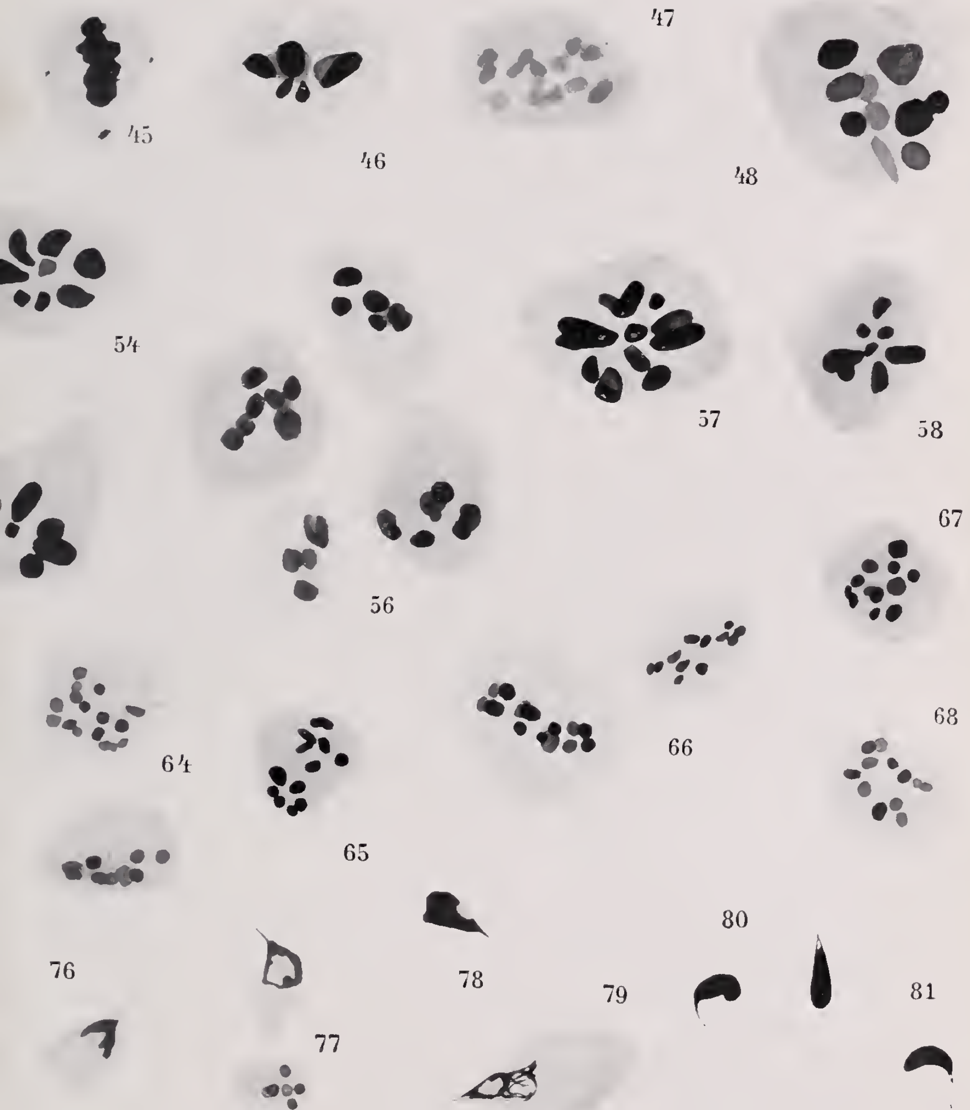
Lindner.

Verlag von Wilhelm En



nn in Leipzig und Berlin.


41
42
43
44
52
53
49
50
51
59
60
61
62
69
74
73
70
72
71


45
46
47
48
54
57
58
56
67
66
68
64
65
80
76
78
79
81
77

Il comportamento dei condriosomi nella rigenerazione dei muscoli striati.

Per il

Dottor **Luigi Torraca.**

(Lavoro eseguito nella stazione zoologica di Napoli.)

Con Tavola XXXIX.

Benda vedendo che nelle fibre muscolari striate, trattate col suo metodo di colorazione, compaiono, nel sarcoplasma, minutissime catenelle di granuli, mentre la stria Q delle fibrille assume un colorito violetto, ha supposto che il disco Q si originasse dai mitocondri.

Godlewsky (8) crede che la formazione delle fibrille striate sia preparata dalla comparsa di piccoli granuli, sulla cui natura egli non si pronunzia, i quali granuli, disponendosi a serie regolari, formano le sottilissime fibrille primitive. Dalle ricerche di Meves (15) risulta invece che il materiale, per le fibrille primitive, non si forma affatto in un determinato stadio delle giovani cellule muscolari, bensì è presente in esse fin dal principio, e, di regola, non sotto forma di granuli, ma sotto forma di filamenti (condrioconti), dai quali deriva tutta, e non solo in parte, la fibrilla muscolare. Secondo Duesberg (4) i mitocondri, che si trovano nei miotomi, si allungano fino ad estendersi dall'una all'altra estremità del mioblasto; rimanendo sempre intorno al nucleo dei mitocondri non modificati. Più tardi i mitocondri, allungati, si trasformano in fibrille; divengono moniliformi, i rigonfiamenti divengono dischi Q, negli intervalli fra questi compaiono altri rigonfiamenti, che sono i dischi Z. Intorno al nucleo e tra le fibrille restano sempre mitocondri indifferenziati.

Luna (12) ha, su per giù, confermato la descrizione di Duesberg, salvo per qualche particolare. Egli attribuisce la segmentazione delle fibrille, non a rigonfiamenti moniliformi di una sottilissima fibrilla, ma alla comparsa di strozzamenti regolari, che dividono le fibrille in tanti

segmenti eguali ed equidistanti. Di più, secondo il Luna, la comparsa del disco Z è più tardiva di quel che non ammettano il Duesberg e lo Heidenhain ed altri che la vogliono precoce contemporanea alla comparsa di Q (Nasse).

Contrariamente a questi, Regaud (17), Regaud e Favre (18) negano la natura mitocondriale delle miofibrille, secondo essi sono mitocondri solo quei granuli e fili ammassati alle estremità degli accumoli protoplasmatici fusiformi perinucleari, e disposti in serie regolari tra le colonnine contrattili.

Levi (11), pur riconoscendo che alcune apparenze stanno in favore della supposta possibilità di trasformazione diretta di condriosomi in miofibrille, preferisce non pronunziarsi sull'argomento, pur essendo convinto che la differenziazione dei mioblasti non si compie nella maniera schematica descritta da Duesberg.

Gli Autori citati son d'accordo nell'ammettere che mitocondri e condrioconti interfibrillari corrispondono ai plasmosomi di Arnold, ai granuli interstiziali di Henle e Kölliker, ai sarcosomi di Retzius, ed ai granuli Q ed I di Holmgren.

Viceversa Holmgren, nella sua ultima comunicazione (10), trova la dottrina dei mitocondri, allo stato attuale, così vaga e »an Inadvertenzen so reich,« da dover per ora rinunziare alla nomenclatura relativa. E cioè a dire egli non crede che i granuli da lui osservati possano chiamarsi mitocondri[1]).

Per gli studi di Waldayer, Barfurth, Bremer[2]), di Colucci (3), di Fraisse (6), di Galeotti e Levi (7), e più recentemente di Schmincke (20), sembra ormai stabilito che la rigenerazione muscolare, se non in tutti gli animali, per lo meno in molti, e tra questi nel tritone, è discontinua. Questo termine, che prendo da Schmincke, significa che le nuove fibre muscolari non sono una emanazione diretta delle fibre divise dal taglio. Fra le vecchie e le nuove fibre è interposto uno stadio intermedio rappresentato da elementi caratteristici cui si sono dati svariati nomi (sarcoblasti, mioblasti, sarcoplasti). Questi elementi provengono

[1]) In un lavoro comparso mentre io aveva già finito questo: Romeis (Das Verhalten der Plastosomen bei Regeneration. Anat. Anz. Bd. XLV. Nr. 1) per provare che nei processi rigenerativi le cellule riassumono i caratteri embrionali, ha ricercato ed ha trovato nelle cellule della coda del tritone in via di rigenerazione un aumento di plastosomi. Questi sono numerosi nei mioblasti ancora poco sviluppati, aumentano poi in numero ed in dimensioni, ripetendo per lo sviluppo delle miofibrille, esattamente il processo descritto da Duesberg.

[2]) Citati da Schmincke.

senz'alcun dubbio dalle fibre tagliate, delle quali, la sostanza contrattile degenera, mentre i nuclei restano, se non tutti almeno in gran parte, vitali ed attivi. Essi migrano nel connettivo cicatriziale, dove si circondano di un corpo fusiforme, dando così luogo alla formazione di sarcoblasti.

Da questi, per fusione del protoplasma dei diversi sarcoblasti (Schmincke), o per moltiplicazione dei nuclei (Galeotti e Levi), si formano le nuove fibre muscolari.

In questo stato di cose, m'è parso interessante lo studio dell'apparato mitocondriale durante la rigenerazione del tessuto muscolare striato, ed i risultati delle mie osservazioni espongo brevemente nelle pagine seguenti.

Piano del lavoro e metodi di ricerca.

Come animale da esperimento mi è convenuto scegliere il tritone, sia per la facilità e la potenza rigenerativa dei tessuti, sia per la spiccata striatura dei muscoli. Un certo numero di tritoni (*triton cristatus*) tenuti in acqua di frequente rinnovata, a digiuno, subirono l'amputazione della coda a circa metà della sua lunghezza. Gli esperimenti erano compiuti col fissare le code, in via di rigenerazione, a diversi periodi di sviluppo.

Per fissare i pezzi ho usato i liquidi di Maximow, seguito dall' imbianchimento alla Rubaschkin, e di Regaud, ma solo col secondo ho ottenuto buoni risultati, e tutte le descrizioni di questo lavoro si riferiscono a pezzi fissati col fissatore di Regaud. Trattandosi di pezzi contenenti uno scheletro osseo mi è convenuto pensare alla decalcificazione; ho usato l'acido nitrico in soluzione acquosa (3%), l'acido cromico (1%), un miscuglio a parti eguali di queste due soluzioni, avendo dato tutti e tre questi metodi risultati egualmente buoni.

Ecco in breve la tecnica seguita.

La coda rigenerata era tagliata due o tre millimetri circa al disopra del punto di amputazione primitivo, in modo da avere, oltre il cono d'accrescimento, anche una parte dei tessuti preesistenti.

Fissazione, per 4 giorni, in liquido di Regaud, rinnovato al minimo intorbidamento.

Decalcificazione per tre giorni in acido nitrico, o per 5—6 giorni in acido cromico, o per 4—5 giorni in miscuglio nitro-cromico.

Prolungato lavaggio (12 ore) in acqua corrente, cromizzazione in bicromato potassico (3%) rinnovato più volte, per 10 giorni.

Lavaggio in acqua per 12 ore, disidratazione in alcool, inclusione in paraffina.

Tagli in serie dello spessore di 5 μ.

Per la colorazione ho usato l'ematossilina ferrica di Heidenhain:

1. Mordenzatura in allume ferrico ($2^1/_2$ %) per 24 ore.

2. Colorazione in ematossilina (1% acquosa) per 24 ore.

3. Breve lavaggio in acqua di fonte.

4. Decolorazione nella stessa soluzione di allume usata per mordenzare.

5. Lavaggio in acqua corrente, prolungato fino ad ottenere una bella colorazione azzurro carico dei condriosomi, disidratazione in alcool, chiusura in balsamo del Canadà.

È noto che colorando con l'ematossilina ferrica di Heidenhain una fibra muscolare essa prende un aspetto caratteristico, perchè non tutte le sue parti costitutive assumono il colore con eguale intensità. E così in primo luogo si distinguono le fibrille dal così detto sarcoplasma, il quale non si colora in bleu, nelle stesse fibrille poi si distinguono le strie anisotrope (Q), ben colorate, dalle isotrope (I) che rimangono più chiare, e i dischi M e Z, il primo (Mesophragma di Heidenhain) nel centro della stria di Hensen, il secondo in mezzo alla stria I (stria di Amici, Telophragma di Heidenhain).

Con la decolorazione, nell'allume ferrico, si decolora prima la stria I più tardi impallidisce il disco *Z* e scompare. Infine non restano che due granuli fortemente colorati che sono le parti marginali di *Z*; tali proprietà della colorazione sono, secondo Heidenhain (9) (dal quale è presa la precedente descrizione), attribuibili alla differente densità delle diverse sezioni delle fibrille. Non entra nell'ambito del presente lavoro discutere tal problema, ho ricordato il comportarsi delle fibrille nella colorazione con l'ematossilina ferrica solo, perchè è necessario, per vedere i mitocondri ed i condrioconti delle fibre muscolari, spingere ancora l'estrazione del colore oltre il limite descritto da Heidenhain, decolorando completamente le fibrille; così facendo si avranno delle immagini identiche a quelle descritte e disegnate da Regaud.

I condriosomi, in tali preparati, assumono l'aspetto di granuli, o di bastoncelli, più o meno lunghi, disposti in serie longitudinali tra le colonnine contrattili (Fig. 1). I filamenti sono più numerosi dei granuli: essi sono per lo più ondulati, sembrano assolutamente indipendenti dai dischi delle fibrille contrattili, nel senso, che spesso, essi sono così lunghi da occupare uno spazio corrispondente a parecchi dischi; divengono più numerosi e più voluminosi ai punti di inserzione delle fibre muscolari. Si trovano anche, ben distinti, nei fusi protoplasmatici perinucleari, dove

assumono una disposizione a gomitolo (Fig. 1). Nell'insieme nella sua forma e situazione il condrioma dei muscoli del tritone somiglia abbastanza esattamente a quello descritto da Luna nei muscoli del *Bufo*.

È noto che le fibre muscolari tagliate subiscono in corrispondenza dello estremo interrotto un processo degenerativo che si estende poi a tutta la fibra o solo ad una parte di essa (Marchand [14]).

Nel tratto degenerato la sostanza contrattile perde i suoi caratteri, diviene omogenea ed infine si frammenta in zolle. Secondo le mie ricerche le fibre in preda a fenomeni regressivi sono più o meno assottigliate, alcune si presentano serpeggianti, altre rettilinee, il sarcolemma generalmente è ben conservato, e per parecchio tempo resta la striatura longitudinale, ben distinguibile, specialmente verso l'estremo tagliato, in corrispondenza del quale la fibra si sfiocca molto distintamente. Durante lo svolgersi di questi fenomeni nel tratto della fibra in degenerazione, i condrioconti interfibrillari sembra seguano in gran parte, se non tutti, la sorte della sostanza contrattile; essi diminuiscono rapidamente di numero e finiscono con lo scomparire del tutto. Poichè nelle fibre tagliate da parecchi giorni (p. es. 13 giorni — esperimento LXVII) e già ridotte a sottili guaine contenenti pochi nuclei, si trovano in quantità notevole dei granuli, che trattengono l'ematossilina, mentre non vi si veggono più che rarissimi condrioconti, se pur vi sono; mi pare probabile che i granuli possano esser dovuti ad un processo regressivo che sminuzzi i condrioconti, e li riduca in piccolissimi frammenti, tanto più che, progredendo ancora la degenerazione delle fibre, i granuli diminuiscono prima, e alla fine scompaiono anche essi.

I detti granuli sono piuttosto piccoli, sensibilmente eguali, e durante il periodo di tempo in cui sono visibili si colorano bene con l'ematossilina, benchè meno intensamente dei condriosomi ben conservati.

Non mi sembra che abbiano una speciale topografia, sono invece sparsi senz'ordine, in tutta la fibra.

Processi regressivi dei condrioconti sono stati descritti dal Romeis (18), negli spermatozoi dell'ascaris, e da Luna (12), nelle cellule di quella parte del rene primitivo del *Bufo* che è destinata a scomparire. Essi consistono in un processo di frammentazione che mette capo alla riduzione in granuli dei condrioconti. Io non sono riuscito a colpire il momento in cui condrioconti si risolvono in granuli, ma poichè questi ultimi si trovano nelle fibre quando i primi sono scomparsi, poichè essi hanno la caratteristica cromatica delle formazioni mitocondriali e finiscono poi con lo svanire essi stessi, mi credo autorizzato a ritenere i granuli, una fase regressiva dei condrioconti muscolari, in preda ad un processo che corrisponde alla

plastorexi di LUNA, ma che in omaggio alla nomenclatura da me adottata chiamerò condriorexi.

I nuclei contenuti nelle fibre muscolari non seguono le sorti della sostanza contrattile; non saprei dire se tutti assolutamente sopravvivano, ma non mi pare di aver notato accenni a processi cariolitici. Certo è che un buon númer o di nuclei rimangono ben colorabili, ma, quel che più conta, presso di loro restano ben distinguibili un certo numero di condrioconti e di mitocondri, e più specialmente quelli che nella fibra normale formano nel protoplasma perinucleare i due gomitoli ai poli del nucleo. Questi nuclei, così circondati, spiccano abbastanza sul restante della fibra degenerata (Fig. 2 e 3). Potrebbe darsi il caso che, in un tempo più lungo, anche questa parte superstite del condrioma muscolare dovesse andare incontro a degenerazione, ma riflettendo al fatto che, presso a cotali fibre in via di degenerazione, e pur contenenti nuclei con il loro condrioma perinucleare, di frequente lungo una linea che ne continua la direzione, e in qualche caso ancora a contatto col suo estremo, si vedono sarcoblasti, e che questi contengono condrioconti, credo di poter affermare che i condrioconti perinucleari sopravvivono, almeno in parte, insieme con i nuclei, al disfacimento della fibra muscolare e con essi passano nei sarcoblasti.

In altre fibre la degenerazione sembra limitarsi ad un breve tratto in prossimità dal punto in cui il taglio è caduto. L'estremo interrotto di tali fibre si assottiglia ed appare come sfibrato. In questo tratto compare un nucleo circondato da condrioconti, numerosi, e aggrovigliati.

In altre fibre non si tratta più di un solo nucleo, ma di due o tre, disposti in catena e circondati tutti da condrioconti.

Al disopra di questo punto, la fibra muscolare non sembra altrimenti alterata. Certamente essa possiede ancora le sue fibrille in cui, malgrado la decolorazione, è dato di riconoscere nettamente la striatura e, tra esse, i condrioconti sono ben distinguibili, come nelle fibre normali, salvo che aumentano di volume e di numero verso l'estremo interrotto (Fig. 4). In un periodo un po' più avánzato, presso l'estremo assottigliato di tali fibre, si vedono nuclei ovali, identici a quelli contenuti nell'interno di esse, circondati da un corpo più o meno fusiforme; alcuni di questi nuclei sono ancora vicini alle fibre altri se ne sono già allontanati.

La fuoruscita dei nuclei dalle fibre tagliate è stata già descritta da GALEOTTI e LEVI, essa avverrebbe, secondo i due autori, soltanto dopo la degenerazione di quelle. Da quanto ho potuto osservare mi sembra invece, che i nuclei si raccolgano verso l'estremo interrotto, anche in fibre che ancora conservano la loro struttura normale. Tali fibre potrebbero

degenerare ulteriormente, ma a me sembra che ciò non debba necessariamente avvenire, tanto più che è già stato osservato che talora non tutta una fibra, ma solo una parte di essa degenera [1]).

I condrioconti delle fibre muscolari recise dal taglio, che esse degenerino o no, sembra passino, perciò, almeno in parte, nei sarcoblasti.

I sarcoblasti si presentano come elementi fusiformi, a nucleo rotondeggiante o ovale, il loro protoplasma contiene un numero variabile di condrioconti sottili, flessuosi, abbastanza lunghi, quasi esclusivamente raccolti in due gomitoli, ad anse molto lasse, presso i poli del nucleo (Fig. 5).

Contrariamente ai reperti di Galeotti e Levi e di Schmincke, non ho potuto notare nei nuclei dei sarcoblasti figure cariocinetiche.

Questo fatto, già notato da Fraisse (6), potrebbe mettersi in rapporto con l'assoluta mancanza di processi mitotici nello sviluppo dei mioblasti embrionali, su cui insiste particolarmente il Duesberg che cita in proposito una numerosa bibliografia a cui rimando.

Comunque sia, i sarcoblasti aumentano rapidamente di numero. Essi sono di rado isolati; per lo più si trovano riuniti in gruppetti, di un numero variabile di elementi, che, in questo primo periodo, sono ancora ben distinti, gli uni dagli altri.

In qualche sarcoblasto fin da questo momento comincia la differenziazione delle fibrille. I condrioconti aumentano di numero, il loro spessore cresce, pur restando uniforme, e si dispongono in direzione parallela all'asse maggiore della cellula (Fig. 6*a*), compaiono in alcuni degli strozzamenti che li dividono in segmenti eguali (primo accenno alla stria Q), separati da intervalli chiari regolari (stria I), avendosi così la formazione di una vera e propria fibrilla.

Tale evoluzione progredisce man mano che i condrioconti si allontanano dal nucleo; e infatti intorno a questo essi sono ancora indifferenziati, mentre lungo la parete del sarcoblasto, si nota già la segmentazione delle fibrille, e tra questi due estremi vi sono tutti i gradi intermedii (Fig. 6*c*).

Volendo osservare, sopra una stessa sezione, l'intiero processo evolutivo dei condrioconti, si deve scegliere una coda rigenerante che sia ricresciuta per una lunghezza di 6—7 millimetri o più. Prendendo, per esempio, una coda rigenerata al trentesimo giorno (esperimento LXIX);

[1]) Die nach der Durchschneidung unausbleibliche Nekrose beschränkt sich auf die zunächst angrenzenden Teile der Fasern . . . (Marchand [14, pag. 291]).

si noterà subito che i due fasci muscolari, che corrono parallelamente, ai lati dell'abbozzo della colonna vertebrale, sono, nella parte prossimale, formati da fibre muscolari a tipo adulto, mentre all'estremità distale continuano a crescere per moltiplicazione di sarcoblasti. È inutile che insista nella descrizione di questi, che sono identici a quelli osservati nei primi momenti del processo rigenerativo, presso le fibre tagliate: fusiformi, più o meno allungati, con un contenuto variabile di condrioconti essi si riuniscono in gruppi consecutivi, secondo la direzione dell'asse della coda, i quali aumentano rapidamente di importanza per il numero di elementi che li compongono e per il volume di questi. I confini delle singole cellule, che sono ben distinguibili nei primi istanti, divengono sempre meno netti, è probabile perciò che avvenga la fusione dei corpi cellulari (Schmincke), e che nella massa protoplasmatica, così formata, continui a svilupparsi la parte fibrillare (Fig. 7).

In questo stadio i condrioconti si allungano molto, essi continuano ad essere sottili, alcuni sono varicosi mentre altri presentano un calibro uniforme, sono ancora flessuosi, ma le loro curve aumentano di ampiezza, adattandosi al contorno dei nuclei; oltre i condrioconti vi sono già delle fibrille, che trattengono l'ematossilina meno dei condrioconti, e che appaiono quindi nei preparati meno intensamente colorate in bleu. Questo, della più facile decolorabilità, è un attributo delle fibrille adulte; si può quindi ammettere che si debba cessare di parlare di condrioconti allungati per parlare di fibrille primitive quando essa comincia a presentarsi.

Il Luna, che descrive anche questo fenomeno, ammette che esso compaia dopo la formazione della stria di Hensen, ma a me sembra che si verifichi anche prima; certo questo è un punto difficilissimo a stabilire, tanto più poi con un metodo di colorazione regressiva, come è quello dell'ematossilina ferrica di Heidenhain; con l'arrestare la decolorazione a diversi momenti, però, io mi sono convinto che la fibrilla cominci a trattenere molto meno tenacemente il colore dopo la prima segmentazione. Comunque sia la comparsa di fibrille è molto precoce, perchè esse sono distinguibili già nel terzo, e talora nel secondo, gruppo di sarcoblasti, a cominciare dalla punta della coda neoformata.

Con l'aumentare del numero delle fibrille i nuclei dei sarcoblasti prendono una situazione laterale (Schmincke). Le cellule si dispongono in situazione alterna, in modo che i nuclei vengono a trovarsi gli uni sotto gli altri, mentre le cellule sono ancora ben distinte; in tale periodo i condrioconti perinucleari sono raccolti a gomitolo ai poli del nucleo. Quando i confini dei singoli elementi scompaiono ed i sarcoblasti si fondono. le fibrille aumentano enormemente di lunghezza e si dispongono in fasci

paralleli; tra questi i nuclei restano ordinati in colonne. Tra un nucleo e l'altro alcuni dei condrioconti, di mezzana lunghezza, restano intrecciati a gomitolo, i più diventano flessuosi e si dispongono parallelamente ai nuclei ed alle fibrille (Fig. 9). Tra queste dapprima sono molti i condrioconti assai lunghi anch'essi, poi questi vanno diminuendo.

È molto difficile dire se tali condrioconti molto allungati continuino a trasformarsi in fibrille, quello che è certo è che, in uno stadio più evoluto della fibra, essi non si veggono più, mentre sono presenti numerosi condrioconti bastonciniformi, più o meno allungati, ma che mai raggiungono dimensioni molto considerevoli. Perciò, delle due l'una, o i condrioconti lunghi si cambiano in fibrille, od essi si spezzettano per dar luogo alle forme più corte.

Certa cosa è che la trasformazione dei condrioconti in fibrille continua ancora in un periodo abbastanza avanzato dello sviluppo. E così in mezzo a fibrille distintamente striate si trovano ancora condrioconti allungati moniliformi che secondo tutte le apparenze sono in via di trasformarsi in fibrille striate (Fig. 8). Che questo possa continuare nelle fibre completamente evolute è quello che non so dire, ma nella parte più prossimale della coda rigenerata, nelle fibre muscolari a tipo adulto, condrioconti lunghi non se ne vedono più, restano solo i mitocondri, e dei condrioconti a bastoncino con tutti i gradi di passaggio tra i due tipi.

L'ulteriore sviluppo delle fibrille ha luogo con un processo identico a quello embrionale: il segmento Q comincia a strozzarsi assumendo la forma di un biscotto; a questo punto già si può notare la comparsa di un punto oscuro intermedio tra due segmenti Q consecutivi (disco Z). Col procedere dello strozzamento si ha la separazione del disco Q in due puntini e la formazione della stria di Hensen. Un fatto che si constata molto facilmente è l'indipendenza reciproca delle fibrille che dura un poco anche dopo la comparsa del disco Z, ma che termina quando i dischi M e Z si estendono nel sarcoplasma (Grundmembrane di Krause, dischi di M e Z di Heidenhain).

Conclusioni e discussione.

Dalle osservazioni riassunte nelle pagine precedenti si possono trarre a mio parere le conclusioni seguenti:

Nel processo di rigenerazione delle fibre muscolari striate gli elementi mitocondriali sembrano avere una funzione importantissima, perfettamente simile a quella che vien descritta a proposito dello sviluppo embrionale dei mioblasti (Meves, Duesberg, Luna).

Se la fibra muscolare, interrotta dal taglio, degenera parzialmente o nella sua totalità, i suoi condrioconti interfibrillari in gran parte si riducono in granuli che poi quando la sostanza contrattile si frammenta, scompaiono. Tale distruzione dei condriosomi mi pare abbia qualche somiglianza con quella descritta da Luna (13) (plastorexi), nell'involuzione del pronefro degli anfibi. I condrioconti e mitocondri che circondano i nuclei superstiti restano invece ben distinguibili e passano coi nuclei nei sarcoblasti. Anche alcuni nuclei di fibre tagliate, ma non ancora degenerate, circondati dei loro condrioconti, vanno a formare una parte dei sarcoblasti.

I condrioconti dei sarcoblasti si allungano in proporzione dell'allungamento degli elementi che li contengono, e si trasformano in fibrille omogenee.

Nelle fibrille hanno luogo precocemente mutamenti strutturali profondi, rivelati dalla variazione del comportamento rispetto al colore, e precisamente da una decolorabilità molto maggiore di quella dei mitocondri. Tale decolorabilità compare dopo il primo accenno della striatura delle fibrille. L'ulteriore sviluppo delle fibrille non differisce da quello descritto per lo sviluppo embrionale.

Una parte dei condrioconti rimane indifferenziata sia nel protoplasma perinucleare, sia negli spazii tra le fibrille, è probabile che questi ultimi corrispondano alle formazioni che sono state descritte da Kölliker, da Retzius, e da Arnold. Mi pare invece debba assolutamente escludersi un qualsiasi paragone coi granuli di Holmgren, queste, infatti, descrive un sistema di granuli che corrisponde alla disposizione delle diverse strie delle fibrille. Il sistema mitocondriale invece, descritto dal Regaud, dal Luna, e da me, è composto da granuli e da filamenti che non hanno rapporti determinati e fissi col periodo delle strie fibrillari, ma sembrano del tutto indipendenti da esso.

Per quanto nei limiti che mi sono imposti in questo lavoro non entri la discussione della dottrina generale dei condriosomi, non posso fare a meno di notare come il risultato dei miei esperimenti, in un certo senso, possa mettersi a confronto con l'ipotesi avanzata da Levi in un lavoro più volte da me citato (11). L'A. discutendo della possibile funzione dei condriosomi, che egli pensa possano essere «destinati a regolare lo svolgimento del complesso e misterioso fenomeno della differenziazione, stimolando le attività formative del protoplasma quando gli organuli debbano costituirsi ed accrescersi» finisce col supporre che: «Nelle cellule che hanno raggiunto il loro sviluppo completo, i condriosomi potrebbero rappresentare una riserva destinata a manifestare la sua funzione quando

la cellula si riproduce; poichè quando una cellula già differenziata si riproduce essa si sdifferenzia, cioè riacquista caratteri embrionari; ed a questo momento i condriosomi riprenderebbero la funzione che essi avevano esplicata durante l'ontogenesi, ridestando in ciascuna delle due cellule figlie l'attività formativa, la quale conduce alla differenziazione di nuovi organuli cellulari.

E negli elementi stabili e perenni nei quali, nell'organismo a completo sviluppo, si è estinta la capacità riproduttiva, i condrioconti riprenderebbero a funzionare, soltanto quando in essi, in seguito a mutilazioni artificiali, si ridesta l'attività rigenerativa».

Nel caso particolare del tessuto muscolare, l'attività dei condrioconti qualunque essa sia, sembra a me non possa svolgersi che nei sarcoblasti, non è quindi mestieri di far notare quanto l'ipotesi di Levi, per quanto enunciata nel campo teorico, possa rispondere alla realtà dei fatti.

Una delle obbiezioni mossa alla dottrina di Meves è la permanenza negli elementi cellulari, completamente differenziati, di un certo numero di condriosomi allo stato embrionale, dato che «all'atto della differenziazione della cellula la loro funzione dovrebbe ritenersi esaurita» (Levi). Una volta che sia dimostrato il passaggio dei condriosomi da un elemento differenziato (fibra striata), in un altro a tipo embrionale (sarcoblasto), durante un processo rigenerativo del tessuto adulto, si può ritenere essere i condriosomi indifferenziati della fibra striata un materiale di riserva, destinato ad entrare in funzione solo quando l'attività rigenerativa vien ridestata, ma niente impedisce che questo materiale invece di avere una funzione semplicemente direttrice e stimolatrice della evoluzione degli elementi cellulari nuovi, vi porti un contributo morfologico secondo le idee appunto di Meves e di Duesberg; e con ciò intendo dire che l'ipotesi del Levi, della possibile entrata in funzione dei condrioconti nella rigenerazione, ha una base di verità così solida che la si deve riconoscere per esatta anche quando non si condividano le idee dell'autore sul destino finale dei condriosomi.

In conclusione, e per quello che riguarda il risultato dei miei esperimenti, mi pare di poter considerare i condriosomi della fibra muscolare adulta come un materiale di riserva indifferenziato, che, quando il tessuto muscolare deve rigenerarsi, passa con i nuclei delle fibre. nei sarcoblasti, nei quali, iniziatosi che sia il processo di differenziazione, dà luogo alla formazione delle nuove fibrille muscolari primitive.

Ma se questo significato funzionale mi sembra perfettamente dimostrato per i condriosomi perinucleari delle fibre muscolari striate, non

mi pare si possa dir lo stesso per quelli interfibrillari, questi, come si è visto, regrediscono con le fibrille durante la degenerazione della fibra muscolare tagliata, è certo quindi che ad essi non può assegnarsi la funzione di passare nei sarcoblasti. Luna (12) propende a credere che questi condriosomi possano entrare in attività producendo nuove fibrille nel processo di iperplasia muscolare, per quanto Duesberg non ammetta più la trasformazione dei condrioconti in fibrille nelle fibre muscolari, dopo che queste hanno raggiunto un certo grado di sviluppo ontogenetico. A chi nega la possibilità della trasformazione dei condrioconti in fibrille nelle fibre già sviluppate, si potrebbe però rispondere che, se anche ciò è vero in condizioni normali, non è egualmente dimostrato per condizioni patologiche sopravvenienti di per sè o artificialmente prodotte, e che, come i nuclei delle fibre muscolari entrano in attività e si moltiplicano solo quando il tessuto muscolare deve, in seguito a parziale distruzione, rigenerarsi, può anche darsi che un certo numero di elementi rimasti indifferenziati sia stimolato ad evolversi soltanto quando il bisogno se ne faccia sentire.

Ammettendo l'origine mitocondriale delle fibrille e volendo attribuire a tutti i condrioconti residuanti nelle fibre muscolari lo stesso significato, mi pare che l'ipotesi del Luna sia la sola che possa reggere, per quanto abbia bisogno di essere confermata.

Altrimenti si deve credere che una porzione dei condrioconti (quella perinucleare) sia una riserva di elementi embrionali; e che l'altra porzione (interfibrillare) possa avere una evoluzione divergente dalla prima e prendere una qualche parte alla funzione muscolare. Quale possa essere questa funzione dei condriosomi, quanto ci sia di vero in ipotesi già avanzate (Arnold, Regaud), e se ci sia veramente una differenza funzionale tra le due parti del condrioma, ulteriori esperienze dovranno decidere.

Napoli, Stazione Zoologica, Novembre 1913.

Lavori consultati.

1. Arnold. Das Plasma der somatischen Zellen im Lichte der Plasmosomen-Granulalehre und der Mitochondrienforschung. Anat. Anz. Bd. XLIII. 1913.
2. Benda. Die Mitochondria. Erg. der Anat. u. Entwicklungsgesch. 1913.
3. Colucci. Intorno alla rigenerazione degli arti e della coda nei tritoni. Mem. dell'Acc. delle Sc. di Bologna, 1884.
4. Duesberg. Les chondriosomes des cellules embryonnaires du poulet et leur rôle dans la genèse des myofibrilles. Arch. f. Zellforsch. 1909—1910.
5. —— Plastosomen, «apparato reticolare interno» und Chromidialapparat. Erg. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. 1912.
6. Fraisse. Die Regeneration von Geweben und Organen bei den Wirbeltieren, bes. Amphibien und Reptilien. Kassel u. Berlin, 1885.
7. Galeotti e Levi. Beitrag zur Kenntnis der Regeneration der quergestreiften Muskelfasern. Zieglers Beitr. zur path. Anat. Bd. XIV.
8. Godlewsky. Die Entwicklung des Skelet- und Herzmuskelgewebes der Säugetiere. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LX.
9. Heidenhain. Plasma und Zelle. Jena, Fischer. 1911.
10. Holmgren. Von den Q- und I-Körnern der quergestreiften Muskelfasern. Anat. Anz. Bd. XLIV. 1913.
11. Levi. Sulla presunta partecipazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare. Arch. ital. di Anat. ed Embr. 1911.
12. Luna. Sulla importanza dei condriosomi nella genesi delle miofibrille. Arch. f. Zellforsch. 1912.
13. —— Sui fenomeni di plastorexi e di plastolisi riscontrabili nel processo di involuzione del pronefro degli anfibi. Monit. Zool. Ital. 1913.
14. Marchand. Der Prozeß der Wundheilung. Deutsche Chirurgie. Jena, Fischer. 1901.
15. Meves. Über Mitochondria bzw. Chondriokonten in den Zellen junger Embryonen. Anat. Anz. Bd. XXXI. 1907.
16. —— Über Neubildung quergestreifter Muskelfasern nach Beobachtungen am Hühnerembryo. Anat. Anz. 1909.
17. Regaud. Sur les mitochondries des fibres musculaires du cœur. C. R. de l'Acad. de Sc. Paris 1909.
18. Regaud et Favre. Granulations interstitielles et mitochondries des fibres musculaires striées. C. R. de l'Acad. de Sc. Paris, 1909.
19. Romeis. Beobachtungen über Degenerationserscheinungen von Chondriosomen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXX. 1912.
20. Schmincke. Die Regeneration der quergestreiften Muskelfasern bei den Wirbeltieren. Verhandl. der Physik.-Med. Gesellsch. z. Würzburg, 1908.

Spiegazione delle figure.

Tavola XXXIX.

Le figure sono state riprese da preparati osservati con microscopio Koristka con tubo allungato a 160 mm, obbiettivo semi-apocromatico ad immersione omogenea 1/15, oculare compensatore 12; tranne le figure 2 e 5 per le quali si usò l'oculare compensatore 8.

Fig. 1. Apparato mitocondriale di una fibra muscolare striata normale. Le fibrille sono quasi completamente decolorate, ma se ne vede tuttavia la striatura. I condriosomi sono in parte accumolati ai poli del nucleo sotto forma di filamenti flessuosi ed intrecciati ed in parte distribuiti tra le fibrille sotto forma di bastoncelli e di filamenti (condrioconti) e di granuli (mitocondri).

Fig. 2. Una fibra muscolare in degenerazione. Un nucleo, ben conservato è circondato da condrioconti e mitocondri ben distinguibili, mentre i condriosomi interfibrillari sono ridotti a soli granuli pallidi.

Fig. 3. Un nucleo di fibra degenerata osservato a più forte ingrandimento. Intorno ad esso mitocondri e condrioconti numerosi e ben conservati.

Fig. 4. Fibre striate interrotte dal taglio che amputò la coda. La degenerazione della sostanza contrattile è limitata alla regione più prossima al taglio. Verso l'estremo delle fibre si vedono nuclei ben conservati circondati da numerosi condriosomi.

Fig. 5. Una catena di giovani sarcoblasti con nuclei allungati, e condrioconti sottili e flessuosi.

Fig. 6*a*. Un sarcoblasto in uno stato di evoluzione più progredita di quelli rappresentati sulla figura precedente: i condrioconti, molto aumentati di numero e di dimensioni, si dispongono parallelamente all'asse maggiore della cellula.

Fig. 6*b*. Sarcoblasto in cui i condrioconti cominciano a differenziarsi in fibrille: presso il nucleo restano dei condrioconti indifferenziati intrecciati in due gomitoli polari.

Fig. 6*c*. Un sarcoblasto in cui si vede che la differenziazione procede man mano che i condrioconti si allontanano dal centro della cellula.

Fig. 7. Un gruppo di sarcoblasti fusi insieme, numerosi condriosomi in diverse fasi di differenziazione. Le fibrille primitive si ordinano in fasci.

Fig. 8. Fibra neoformata in un avanzato stadio di evoluzione: tra le fibrille già distintamente striate e completamente decolorabili vi sono numerosi condrioconti, allungati, alcuni sono omogenei, altri in via di segmentazione.

Fig. 9. Un nucleo della fibra precedente: si vede come i condrioconti perinucleari tendono a mettersi in una direzione parallela a quella delle fibrille.

Nota: Le figure 2—5 sono tolte da sezioni dell'esperimento LXVII: Coda rigenerante al tredicesimo giorno di sviluppo.

La figura 6 da una sezione dell'esperimento LIX: coda rigenerante al diciottesimo giorno, la figura 7 da una sezione dell'esperimento LXIX: coda rigenerante al trentottesimo giorno, le figure 8 e 9 da una sezione dell'esperimento LXI: coda rigenerante al ventiquattresimo giorno.

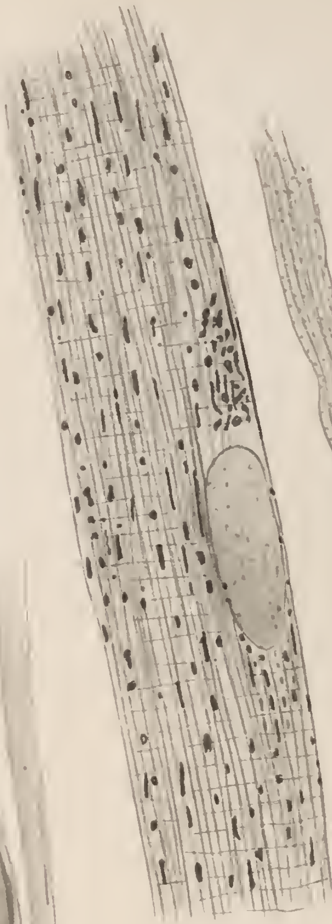


Fig. 1.

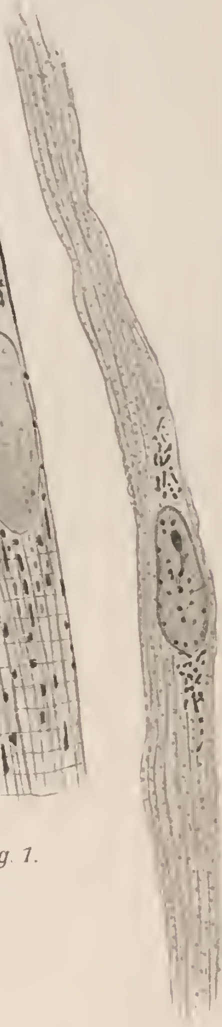


Fig. 2.



Fig. 4.



Fig. 3.

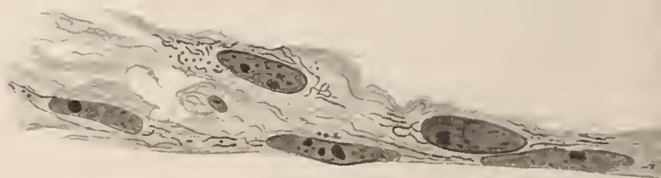


Fig. 5.

Torraca

Verlag von Wilhelm E



Fig. 8.



Fig. 9.



Fig. 6.



Fig. 7.

Vier Momentaufnahmen der intracellulären Pigmentströmungen in den Chromatophoren erwachsener Knochenfische.

Von

Professor Dr. med. et. phil. **E. Ballowitz,**

Direktor des anatomischen Instituts der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. W.

Mit Tafel XL.

Die intracelluläre Strömung der Pigmentkörnchen in den Chromatophoren der Knochenfische ist in voller Intensität bei dem erwachsenen Tier bis jetzt noch von niemand gesehen worden, weil es bisher an einem günstigen Beobachtungsobjekt gefehlt hat.

V. Franz[1]) ist der einzige, welcher erwähnt, daß er die »Strömung« oder »Verschiebung« der Pigmentkörnchen in den Farbstoffzellen bei durchsichtigen kleinen Fischlarven beobachtet hat. Abgesehen davon, daß, wie die Abbildungen Fig. 1—3 der Franzschen Abhandlung zeigen, die Chromatophoren der von ihm untersuchten Fischlarven noch wenig entwickelt sind und sich nicht unwesentlich von den charakteristischen großen, meist sternförmigen Farbstoffzellen der erwachsenen Fische unterscheiden, macht Franz weiter gar keine Angaben über die Erscheinungsformen dieser Pigmentbewegung.

Bei meinen Untersuchungen über chromatische Organe und Farbzellenkombinationen bei Knochenfischen[2]) glückte es mir nun, in der

---

[1]) V. Franz, Die Struktur der Pigmentzellen. Biol. Centralbl. Bd. XXVIII. Nr. 16 und 17. 1908.

[2]) E. Ballowitz, Die chromatischen Organe in der Haut von *Trachinus vipera* Cuv. Ein Beitrag zur Kenntnis der Chromatophorenvereinigungen bei Knochenfischen. Mit Taf. XIV—XVIII. Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. CIV. 1913. — Derselbe: Über chromatische Organe in der Haut von Knochenfischen. Mit 15 mikrophotographischen Abbildungen. Anat. Anz. Bd. XLII. Nr. 7/8. 1912. — Derselbe: Über schwarz-rote Doppelzellen und andre eigenartige Vereinigungen heterochromer Farbstoffzellen bei Knochenfischen. Mit 29 mikrophotographischen Abbildungen. Anatomischer Anz. Bd. XLIV. Nr. 5. 1913. — Derselbe: Über chromatische Organe,

Hirnhaut bestimmter Gobiiden ein sehr günstiges Studienobjekt aufzufinden, welches gestattete, die Pigmentströmung unter dem Mikroskop bei stärkster Vergrößerung viele Stunden lang zu beobachten. Es gelang mir, von dieser Körnchenströmung bei Ölimmersion auch kinematographische Serienaufnahmen herzustellen. Auf der 27. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft in Greifswald am 10.—13. Mai 1913 konnte ich davon bereits einen 30 m langen Film demonstrieren[1]). Über meine Beobachtungen habe ich kürzlich in Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie eine größere Abhandlung[2]) veröffentlicht, welche auch eine Anzahl in bestimmten Abständen den Filmserien entnommener Mikrophotogramme bringt.

Inzwischen entdeckte ich in Neapel in den Erythrophoren der Haut der Seebarbe ein ähnlich günstiges Objekt für das Studium der Pigmentströmung[3]).

---

schwarz-rote Doppelzellen und andre eigenartige Chromatophorenvereinigungen, über Chromatophorenfragmentation und über den feineren Bau des Protoplasmas der Farbstoffzellen. Mit Demonstrationen. Mit Textfiguren. Vortrag, geh. auf der 27. Vers. der anat. Gesellsch. am 25.—29. Mai 1913 in Greifswald. Verhandl. der anatomischen Gesellschaft auf der 27. Versammlung in Greifswald. G. Fischer, Jena 1913. — Derselbe: Über Erythrophoren besonderer Art. Mit Taf. XIV. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXXII. Abt. I. 1913. — Derselbe: Über die Erythrophoren in der Haut der Seebarbe, *Mullus* L., und über das Phönomen der momentanen Ballung und Ausbreitung ihres Pigments. Nach Beobachtungen an der lebenden Zelle. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXXXIII. Abt. I. 1913. — Derselbe: Das Verhalten der Zellkerne bei der Pigmentströmung in den Melanophoren der Knochenfische. Nach Beobachtungen am lebenden Objekt. Biol. Centralbl. Bd. XXXIII. Nr. 5. 20. Mai 1913. — Vgl. auch meine Mitteilung über das Verhalten des Zellkernes bei der Pigmentströmung in den Erythrophoren der Knochenfische. Nach Beobachtungen an der lebenden *Mullus*-Zelle. Biol. Centralblatt. Bd. XXXIII. 1913.

[1]) E. Ballowitz, Über chromatische Organe, schwarz-rote Doppelzellen und andre eigenartige Chromatophorenvereinigungen, über Chromatophorenfragmentation und über den feineren Bau des Protoplasmas der Farbstoffzellen. Mit Demonstrationen. Mit 4 Textfiguren. Vortrag gehalten auf der 27. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft am 25.—29. Mai 1913 in Greifswald. Verhandl. der Anatomischen Gesellschaft auf der 27. Versammlung in Greifswald. G. Fischer, Jena 1913.

[2]) E. Ballowitz, Über die Pigmentströmung in den Farbstoffzellen und die Kanälchenstruktur des Chromatophoren-Protoplasmas. Nach Beobachtungen an der lebenden Pigmentzelle und nach kinematographischen Aufnahmen. Mit 6 Textfiguren und 4 Tafeln mit kinematographischen Mikrophotogrammen. Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie. 1914.

[3]) E. Ballowitz, Über die Erythrophoren in der Haut der Seebarbe, *Mullus* L. und über das Phönomen der momentanen Ballung und Ausbreitung ihres Pigmentes. Nach Beobachtungen an der lebenden Zelle. Mit 2 Tafeln. Archiv f. mikroskopische Anatomie. Bd. LXXXIII. Abt. I. 1913.

Um auch die Aufmerksamkeit weiterer Fachkreise auf die Gobiidenzellen hinzulenken, will ich an dieser Stelle noch vier charakteristische Momentaufnahmen der Pigmentströmung in den Melanophoren erläutern. Sie sind vier verschiedenen Serien des Films beliebig entnommen und stellen um das Fünffache vergrößerte Filmbilder dar; die Vergrößerung ist etwa 2500.

In den vier Mikrophotogrammen tritt als auffälligste Erscheinung die Anordnung der Pigmentkörnchen in radiären Reihen überall sofort hervor. Sie ist nicht nur an den Stellen zu erkennen, von welchen das Pigment schon zum Teil abgewandert ist, und die Fortsätze der Pigmentzelle dadurch pigmentarm geworden sind, sondern läßt sich auch an den dunklen, mit Pigmentkörnchen vollgestopften Pigmentarmen, falls sie durchsichtig genug geblieben sind, feststellen.

Wie ich in den oben zitierten Abhandlungen näher begründet habe, ist die reihenweise radiäre Anordnung der Pigmentkörnchen darauf zurückzuführen, daß das Protoplasma der Chromatophoren kanalisiert ist, und die Körnchen in den vielen engen radiären Kanälchen gleiten. Die Bewegung der Körnchen wird durch Kontraktion des Protoplasmas, welches die zarte Wandung der Kanälchen bildet, verursacht. Daraus ergibt sich, daß auch die Bewegung der Pigmentkörnchen durchaus in radiären Reihen erfolgt, wie die Vorführung des Films auf das schönste zeigt. Die radiäre Anordnung der Körnchen ist am lebenden Objekt noch viel deutlicher, als in dem bestfixierten Präparat.

Es ist daher irrtümlich und wird durch meine Beobachtungen und Filmaufnahmen widerlegt, wenn Franz l. c. S. 545 sagt: »Nur eine verhältnismäßig geringe Bedeutung kann ich der oft beobachteten Reihengruppierung der Pigmentkörnchen beimessen. Ich habe gefunden, daß von einer solchen stets um so weniger bemerkt wird, je lebensfrischer das Material ist. Die Reihengruppierung der Pigmentkörnchen ist also als Absterbeerscheinung aufzufassen.«

Auch ist die tangentiale, d. h. zirkuläre Anordnung der Körnchen, von welcher Solger[1]) und Franz[2]) sprechen, nur eine scheinbare. Solger glaubte sie an abgestorbenen bzw. fixierten Präparaten zu erkennen. In den beiden Abbildungen, welche Franz davon l. c. S. 546 in seinen Fig. 12 und 13 aus einer Larve des Dorsches gibt, handelt es sich um einfache partielle Stauungen des Pigmentes, wie auch der Autor selbst

[1]) B. Solger, Über pigmentierte Zellen und deren Centralmasse. Mitteilungen aus dem naturw. Verein für Neu-Vorpommern u. Rügen in Greifswald. XX. Jahrg. 1889. — Derselbe, Zur Struktur der Pigmentzelle. Zoolog. Anzeiger 1889.

[2]) L. c. S. 545 und 546.

hervorhebt und wie sie bei der Kontraktion des Zellprotoplasmas der Chromatophoren nicht selten auftreten. Pigmentströmung in zirkulärer Richtung habe ich niemals beobachtet, vielmehr erfolgt dieselbe stets radiär, im peripherischen Bereich auch mit geringer seitlicher Abweichung, jedenfalls infolge des Vorhandenseins zahlreicher Anastomosen der Kanälchen in diesem Bezirk.

Die Fig. 1 und 2 der meiner Abhandlung beigefügten Taf. XL sind zwei Serien entnommen, welche bei der Abdrehung des Films die Körnchenströmung auf das prachtvollste vorführen. In beiden Figuren ist ein breiter, dünner, keilförmiger Fortsatz eines Melanophors eingestellt. Aus den peripherischen Teilen ist das Pigment unter dem direkten Einfluß des Lichtes schon zum Teil ausgewandert und hat sich centralwärts angehäuft. Besonders gilt das für Fig. 2. Die Bewegung der Körnchen ist eine lebhaft strömende, eigenartig ruckende, wobei besonders hervorzuheben ist, daß ein Teil der Körnchenreihen sich centripetal, ein andrer Teil genau entgegengesetzt bewegte.

Das Mikrophotogramm der Fig. 3 zeigt drei Pigmentarme. Der mittlere, breitere ist am schärfsten eingestellt. Die Länge dieser Pigmentarme entspricht etwa der halben Länge der Protoplasmaarme dieser Schwarzzelle, so daß die Hauptmasse des Melanins etwa bis zur Mitte des Protoplasmaarmes reicht, während die peripherische Hälfte des letzteren bis auf vereinzelte Pigmentkörnchen schon vollständig pigmentfrei und damit unsichtbar geworden ist. Bei der Vorführung dieser Filmserie sieht man nun den von mir beschriebenen, so überaus charakteristischen Körnchentanz auf das schönste. Man erblickt an den peripherischen Enden der verkürzten Pigmentarme und zwar nur hier, nicht an ihrem Seitenrande, verschieden weit vorgeschnellte, beziehungsweise wieder zurückweichende Melaninkörnchen und kleine Körnchenreihen. Sie dringen dabei in den unsichtbaren, pigmentfreien Teil des Protoplasmaarmes ein. Ihre jonglierenden Bewegungen spielen sich aber stets in radiärer Richtung ab, weil sie in den Radiärkanälchen des liegenbleibenden Chromatophorenprotoplasmas gleiten. Die isolierten Körnchen zeigen daher auch hier an dem freien Ende der Pigmentarme eine auffällig radiäre Anordnung.

In Fig. 4 der Tafel ist die centrale Zusammenballung des Pigments schon zum größten Teil erfolgt. Oben befindet sich in dem Mikrophotogramm der größte Teil der centralen, zusammengeballten Pigmentscheibe. Ringsherum ist sie aber noch umgeben von zahlreichen Körnchen und Körnchenreihen, die in den Radiärkanälchen der Protoplasmaarme des Melanophors liegen geblieben sind und allmählich in radiärer Richtung



Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4

…ann in Leipzig und Berlin.

nachrutschen, um sich mit der centralen Melaninmasse zu vereinigen. Sehr beachtenswert ist bei allen diesen Körnchenreihen der Figur die streng radiäre Anordnung der Pigmentreihen in diesen Momentaufnahmen.

In betreff aller Einzelheiten über diese interessanten Bewegungsvorgänge, die auch auf die Protoplasmastruktur dieser Zellen, wie angedeutet, wichtige Schlüsse zulassen, verweise ich auf meine oben zitierte, in Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie erschienene Abhandlung.

Zur Kenntnis des feineren Baues des Chromatophoren-Protoplasmas.

Von

Professor Dr. med. et phil. **E. Ballowitz,**

Direktor des anatomischen Instituts der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. W.

Mit Tafel XLI—XLII.

Über den feineren Bau des Chromatophorenprotoplasmas ist bisher sehr wenig bekannt geworden. Die meisten Autoren, welche das pigmentfreie und alsdann gewöhnlich unsichtbare Protoplasma der Chromatophorenfortsätze überhaupt gesehen haben, konnten darin keine weitere Struktur erkennen. Nur B. Solger, M. Zimmermann und insbesondere V. Franz haben Angaben gemacht, daß den Chromatophoren eine besondere Struktur zukommt.

B. Solger[1]) bemerkte einerseits an den zusammengeballten schwarzen und gelben Chromatophoren des Härings »einen feinen farblosen Strahlenkranz, der den Farbstoffhaufen einsäumt. Die einzelnen pseudopodienartigen Strahlen sind von verschiedener Länge und verschiedenem Kaliber, sie scheinen sich dichotomisch zu verästeln und sich dabei zu unmeßbarer Feinheit zu verjüngen«. Einen feineren Bau vermochte der Autor an diesen pigmentfrei gewordenen Fortsätzen nicht wahrzunehmen; er erschien ihm an den frischen Präparaten »vollkommen homogen«; auch Bewegungserscheinungen waren nicht zu erkennen.

Anderseits konnte B. Solger an den dunklen Chromatophoren des Hechtes einige Male in frischen Schnitten »feine geradlinige, farblose Fortsätze des Zellenkörpers wahrnehmen, die aber auch hier in starrer Ruhe verharrten. Sie erreichten nur einen geringen Durchmesser, so daß ein weiteres Eindringen in den feineren Bau derselben ausgeschlossen war.« Zu dem Komplex dieser Fortsätze gehörte, wie ein Sektor, ein

[1]) B. Solger, Über pigmentierte Zellen und deren Centralmasse. Mitteilungen des naturwissenschaftlichen Vereins von Neu-Vorpommern und Rügen. 22. Jahrg. 1890.

nach innen sich zuspitzendes Gebiet des pigmentierten Zellenleibes, welches sich durch die auffallend regelmäßige Anordnung der Pigmentschollen von der übrigen Masse des Zellenleibes deutlich abhob. Im Bereich dieses dreieckigen Feldes waren nämlich die Farbstoffpartikelchen deutlich radiär aneinandergereiht.

In den Fig. 2*a* und *b* seiner Abhandlung hat SOLGER diese »feinen, fadenartigen Fortsätze« an einem Melanophoren des Hechtes nach Behandlung mit FLEMMINGS Chromosmiumessigsäuregemisch abgebildet; sie überragen in der Zeichnung den Rand der Pigmentmasse. Innerhalb der letzteren scheint der Autor sie aber nicht erkannt zu haben; wenigstens wird im Text nichts davon erwähnt und ist in seinen Zeichnungen nichts davon zu sehen. Auch enthält sich der Autor einer bestimmten Deutung dieser »Fortsätze«; er scheint sie für pigmentfrei gewordene Protoplasmafortsätze der Farbstoffzelle anzusehen.

W. ZIMMERMANN[1]), welcher die pigmentfrei gewordenen Fortsätze der Melanophoren bei Knochenfischen in Schnittpräparaten durch Färbung sehr deutlich darstellen konnte, macht die wenig beachtete Angabe, daß »die pigmentfrei gewordenen Ausläufer bis in die äußersten Enden hin eine bestimmte, aber zarte Längsstreifung« in seinen tingierten Präparaten zeigten. ZIMMERMANN hält diese Streifung nach Befunden an gebleichten Zellen für »eine Fortsetzung der Archiplasmastrahlung«.

Eine eigenartige Anschauung über den inneren Bau der Chromatophoren hat V. FRANZ[2]) entwickelt, welcher die Farbzellen an lebenden durchsichtigen Fischlarven studierte. Diese Fischlarven sind zwar wegen ihrer Durchsichtigkeit ein sehr günstiges Studienobjekt, zeigen aber die Farbstoffzellen noch nicht in der vollkommenen Ausbildung, wie bei dem älteren und erwachsenen Tier. FRANZ beobachtete nun in seinen Präparaten eine reihenweise Anordnung der Pigmentkörnchen und stellte fest, daß diese Körnchenreihen neben und zwischen hellen, pigmentlosen, schmalen Streifen verlaufen, die er als starre »skelettartige Stäbe« deutet. Wie die Textfig. 4—8 seiner Abhandlung zeigen, können sich diese Streifen auch verzweigen. Seine schematische Fig. 9 (l. c. S. 541), welche die von dem Sphärenfleck ausstrahlenden »Stäbe« innerhalb des Zellkörpers demonstrieren soll, ist nicht beweisend, da sie nicht nach direkten Beobachtungen gezeichnet, sondern vielmehr schematisch konstruiert ist. Es wird nicht klar, ob FRANZ diese »Stäbe« nur in den Fortsätzen oder

---

[1]) W. ZIMMERMANN, Über die Kontraktion der Pigmentzellen der Knochenfische. Verhandl. der anat. Gesellschaft in Göttingen. 1893.

[2]) V. FRANZ (Helgoland), Die Struktur der Pigmentzelle. Biologisches Centralblatt. Bd. XXVIII. 1908. S. 536.

auch in dem Zellkörper der Pigmentzelle selbst gesehen hat, da er sagt, daß er hinsichtlich der centralen Endigung der »Stäbe« bei der Untersuchung derselben am lebensfrischen Material »nicht allzuweit« gekommen ist.

Der Autor kommt schließlich zu der Annahme, daß die Pigmentzelle in sich ein aus Stäben bestehendes Skelett birgt, »dessen Centrum mit dem dynamischen Centrum der Pigmentattraktion zusammenfällt«.

In betreff der Stäbchen heißt es dann l. c. S. 543:

»Die Frage ist wohl nicht allzu schwer zu beantworten, warum die Pigmentzelle ein solches Skelett enthält. In der Pigmentzelle finden viel regere intracelluläre Verlagerungen statt, als in irgendeiner andern Zelle, und die Ausbildung eines, die Erhaltung der Form der ganzen Zelle gewährleistenden Skelettes wurde damit zur Notwendigkeit. Zugleich haben die Stäbe diejenige Anordnung, welche am allerbesten die bald central, bald peripher gerichteten Verschiebungen der Pigmentkörnchen ermöglicht«.

Wie sich der Autor diese »Verschiebungen der Pigmentkörnchen« denkt, welche Kräfte sie veranlassen sollen, wird nicht angedeutet.

In einer in Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie niedergelegten Arbeit[1]), auf welche ich hier verweise, habe ich meine eignen Beobachtungen an den lebenden Chromatophoren der Knochenfische niedergelegt. Durch Studien an einem sehr günstigen Objekt bei stärksten Immersionsvergrößerungen und durch Analyse kinematographischer Aufnahmen der Pigmentströmung innerhalb der Melanophoren, bin ich zu dem Schluß gekommen, daß das Chromatophorenprotoplasma von vielen feinsten, radiären, unter sich anastomosierenden Kanälchen durchzogen wird, in welchen die Pigmentkörnchen centripetal und centrifugal strömen. Die Bewegung der Körnchen wird, wie ich annehme, durch abwechselnde Kontraktion und Erschlaffung des Wandungsprotoplasmas der Kanälchen hervorgerufen.

---

1) E. Ballowitz, Über die Pigmentströmung in den Farbstoffzellen und die Kanälchenstruktur des Chromatophorenprotoplasmas. Nach Beobachtungen an der lebenden Pigmentzelle und nach kinematographischen Aufnahmen. Mit 6 Textfiguren u. 4 Tafeln mit kinematographischen Mikrophotogrammen. Pflügers Arch. f. d. ges. Phys. 1914. — Derselbe, Über chromatische Organe, schwarz-rote Doppelzellen und andre eigenartige Chromatophoren-Vereinigungen, über Chromatophoren-Fragmentation und über den feineren Bau des Protoplasmas der Farbstoffzellen. Mit Demonstrationen und kinematographischer Vorführung der Pigmentströmung. Vortrag geh. auf der 27. Vers. der Anat. Ges. am 25.—29. Mai 1913 in Greifswald. Verh. d. anat. Gesellsch. auf der 27. Vers. in Greifswald. G. Fischer, Jena 1913.

Nachdem ich diese meine Anschauungen durch Beobachtung der Pigmentströmung an der lebenden Zelle[1]) erschlossen und begründet hatte, mußte es meine Aufgabe sein, für das Vorhandensein der Kanälchen und Kanälchenwandung im mikroskopischen Präparat direkte histologische Beweise zu erhalten. Diese Untersuchungen sind aber nicht so leicht, da, wie ich schon erwähnt, das pigmentfrei gewordene Chromatophorenprotoplasma im frischen Präparat gewöhnlich ganz unsichtbar bleibt, und die frischen Präparate nach dem Absterben der Zelle sich schnell verändern und für feinere Untersuchungen unbrauchbar werden. Bei meinen ausgedehnten Studien über Chromatophoren, chromatische Organe und Chromatophorenvereinigungen[2]) konnte ich bisher nur gelegentlich darauf bezügliche Beobachtungen machen, und fehlte es mir bis jetzt an Zeit, die Studien über den feineren Chromatophorenbau systematisch durchzuführen. Auch ist es oft sehr schwierig, das geeignete Fischmaterial dafür in die Hände zu bekommen. Wenn daher die in folgendem mitzuteilenden Untersuchungen auch noch nicht abgeschlossen sind und Resultate gebracht haben, die mir selbst in ihrer Deutung noch nicht ganz geklärt erscheinen, so will ich diese Beobachtungen doch hier schon veröffentlichen, da sie mir wichtig genug zu sein scheinen und eine wesentliche Ergänzung zu meinen physiologischen Beobachtungen an der strömenden Pigmentmasse der lebenden Zelle bilden.

Alle folgenden Beobachtungen sind an dem frischen, in physiologischer Kochsalzlösung liegenden Flächenpräparat der Pigmentzelle bei stärkster Immersionsvergrößerung (ZEISS, homogen. Immers. 1,5 mm, Apert. 1,40, Kompens.-Ocul. 12), zum Teil während eines Studienaufenthaltes an der

---

[1]) Vgl. auch E. BALLOWITZ, Über die Erythrophoren in der Haut der Seebarbe, *Mullus* L., und über das Phönomen der momentanen Ballung und Ausbreitung ihres Pigmentes. Nach Beobachtungen an der lebenden Zelle. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXXXIII. Abt. 1. 1913.

[2]) E. BALLOWITZ, Die chromatischen Organe in der Haut von *Trachinus vipera* Cuv. Ein Beitrag zur Kenntnis der Chromatophorenvereinigungen bei Knochenfischen. Mit Taf. XIV—XVIII. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. CIV. 1913. — Derselbe: Über chromatische Organe in der Haut von Knochenfischen. Mit 15 mikrophotographischen Abbildungen. Anat. Anz. Bd. XLII. Nr. 7/8. 1912. — Derselbe: Über schwarz-rote Doppelzellen und andre eigenartige Vereinigungen heterochromer Farbstoffzellen bei Knochenfischen. Mit 29 mikrophotographischen Abbildungen. Anat. Anz. Bd. XLIV. Nr. 5. 1913. — Derselbe: Über chromatische Organe, schwarz-rote Doppelzellen und andre eigenartige Chromatophorenvereinigungen, über Chromatophorenfragmentation und über den feineren Bau des Protoplasmas der Farbstoffzellen. Mit Demonstrationen. Mit 4 Textfiguren. Vortrag, geh. auf der 27. Versammlung der anat. Gesellsch. am 25.—29. Mai 1913 in Greifswald. Verhandl. d. anat. Gesellsch. auf der 27. Versammlung in Greifswald. G. Fischer, Jena 1913.

zoologischen Station in Neapel im April 1913, gemacht. Die vier Figuren der Taf. XLI und XLII wurden gleichfalls nach dem frischen, beziehungsweise lebenden Objekt bei stärkster Vergrößerung gezeichnet; sie stellen eine Auswahl aus einer Zahl ähnlicher Skizzen dar. Die Fig. 1, 2 und 4 wurden in Neapel angefertigt. Fig. 1 stammt aus einem Hautpräparat von *Mullus barbatus*, Fig. 2 und 4 aus einem solchen von *Blennius ocellaris*; Fig. 3 wurde nach einem Hirnhautpräparat von *Gobius minutus* gezeichnet.

Fig. 1 stellt die Hälfte eines Melanophoren dar, dessen Pigmentmasse sich dem Stadium der maximalen Pigmentballung nähert; einige größere Pigmentkügelchen sind noch in einiger Entfernung von der Hauptmasse des Melanins isoliert liegen geblieben. In der Nachbarschaft des Pigmentklumpens, dort wo sich vorher die ausgebreiteten Pigmentfortsätze[1]) befanden, erblickt man zahlreiche, feine, lineare Streifen von verschiedener Dicke, welche von der Pigmentmasse radiär ausstrahlen. Sie befinden sich der Lage nach im Bereich der ursprünglichen Pigmentfortsätze, sind aber sehr viel dünner, als die letzteren. Sie können daher auch nicht den pigmentfrei gewordenen Protoplasmafortsätzen selbst entsprechen, sondern stellen nur Strukturbestandteile der letzteren dar und befinden sich innerhalb derselben. Ein Teil der Protoplasmafortsätze ist auch noch an der centralen Pigmentmasse in Form von unregelmäßigen Pigmentvorsprüngen angedeutet. Bei *Gobius* wurden auch Teilungen der Streifen beobachtet.

Fig. 2 führt einen Melanophor mit völlig zusammengeballtem Melanin vor. Die Scheibe ist rings herum umgeben von einem sehr auffälligen Kranze sehr zahlreicher linearer Strahlen, welche verschiedene Länge und Dicke besitzen. Ein Teil dieser Strahlen ist ein wenig dicker und deutlicher als die übrigen; ihnen kommt auch die größte Länge zu. Gegen die Peripherie hin werden sie dünner und hören schließlich unmerklich auf. Zwischen diesen dicken Strahlen konnte ich nun deutlich zahlreiche, andre radiäre Linien erkennen von eigentümlichem Aussehen. Sie sind sehr fein, wenig scharf begrenzt und machen einen sehr zarten, etwas verschwommenen Eindruck. Bei der Wiedergabe der Zeichnungen auf den Tafeln sind sie zu bestimmt ausgefallen. Sie verlaufen radiär und dort, wo sie zahlreicher sichtbar sind, dicht nebeneinander, doch so, daß ein schmaler radiärer, heller Raum zwischen ihnen bleibt, der den radiären Reihen des ausgebreiteten Pigmentes an Breite und Rich-

[1]) Ich unterscheide zwischen Pigmentfortsätzen und Protoplasmafortsätzen; als Pigmentfortsätze bezeichne ich die in den liegenbleibenden Protoplasmafortsätzen in verschiedener Ausdehnung befindliche Pigmentmasse.

tung etwa entsprechen würde. Diese feinsten, äußerst zarten Linien tauchen nur hier und da auf und sind nur bei genauester Einstellung und stärkster Vergrößerung deutlicher sichtbar. Sie scheinen auch ein leicht vergängliches Strukturelement darzustellen, da sie meist nur kurze Zeit sichtbar bleiben, um dann zu verschwinden. Auch scheinen sie nur in einem bestimmten Zeitpunkt, anscheinend kurz nach oder bei dem Absterben der Zelle, aufzutreten. Auch werden sie durchaus nicht an jeder Zelle und in jedem Präparat angetroffen, sondern nur hier und da. Es war bei meinen Untersuchungen immer ein besonderer Glücksfall, wenn ich sie deutlich sah. Bei *Blennius* (Fig. 2 auf Taf. XLI) machte ich an ihnen nun noch eine besondere, wohl nicht unwichtige Beobachtung, die auch in der Fig. 2 ihren Ausdruck findet. Diese feinsten Radiärlinien erschienen nämlich hier deutlich körnig, wie aus körnigem Protoplasma bestehend. Die reihenweise angeordneten Körnchen waren äußerst fein, sehr zart und mattglänzend, weit kleiner als die Melaninkörnchen. Wie die Figur zeigt, waren sie auch nicht an allen feinen Linien zu sehen und schienen leicht vergänglich; vielleicht stellen sie auch schon ein Zerfallsprodukt der feinen Strahlen dar. Diese Beobachtung an *Blennius* machte ich während meines kurzen Aufenthaltes in Neapel; die Zeit fehlte mir, um diese Beobachtung noch weiter zu verfolgen.

Auch bei andern Fischen konnte ich diese feinsten radiären Linien feststellen. Ich habe sie schon in meiner Arbeit über die Erythrophoren von *Mullus* erwähnt. Besonders oft und deutlich nahm ich sie an den Melanophoren der Hirnhaut von *Gobius minutus* und *Gobius pictus* wahr, wenn das Pigment sich maximal zusammengeballt hatte. Die schwarze Scheibe war dann bisweilen fast ganz umgeben von einem dichten Strahlenkranz feinster, zartester, dicht stehender Linien, unter denen hier und da gröbere hervortraten. Die Linien standen so dicht aneinander, daß sie nur ganz feine, schmale, radiäre Räume zwischen sich ließen. Die gleiche Bildung außerhalb der Pigmentmasse hat Solger wohl schon gesehen, wie oben bei der Literaturbesprechung ausgeführt ist.

Die Deutung dieser Befunde ist nicht leicht. Die feinen radiären Linien sind mir nicht scharf genug, um sie für Fibrillen halten zu können. Vielmehr bin ich geneigt, in ihnen den optischen Ausdruck der protoplasmatischen, feinsten, kontraktilen Wandung der radiären Kanälchen zu sehen, in welchen letzteren die Pigmentkörnchen hin und her gleiten. Ihr ganzes Aussehen, insbesondere auch die feinkörnige Zusammensetzung schien mir dafür zu sprechen.

Bestärkt werde ich in dieser Annahme durch Beobachtungen, welche ich an den Melanophoren in der Hirnhaut von *Gobius* machte, wenn sich

das Pigment zusammengeballt hatte. Wie ich oben geschildert habe, sieht man hier bisweilen die Pigmentscheibe von einem dichten Strahlenkranze feinster Linien umgeben, die nur bei horizontaler Lage und schärfster Einstellung deutlich erkennbar sind. Es kam nun bisweilen vor, daß im Bereiche dieser Linien eine leichte Faltung des Gewebes oder eine Abknickung der Linien erfolgt war, so daß man alsdann ein Schräg- beziehungsweise ein Querschnittbild der letzteren erhielt. Diese Linien erschienen alsdann aber nicht als Punkte, sondern in Form eines äußerst zarten Maschen- oder Netzwerkes mit rundlichen Maschen. Die Netzlücken hatten denselben Durchmesser wie die mit den Körnchenreihen erfüllten hellen Räume zwischen den zarten Streifen. Ich gewann daher den Eindruck, daß hier das Querschnittbild eines kanalisierten Gewebes mit sehr zarter dünner Kanälchenwandung vorlag.

Die gröberen, radiären Linien sind wohl stärkere Anhäufungen des Chromatophorenprotoplasmas. Es schien mir, daß diese gröberen Linien den Begrenzungen und Randpartien der Protoplasmafortsätze der Chromatophoren entsprechen. Hierfür scheint mir zum Beispiel Fig. 4 der Taf. XLII zu sprechen. Diese Abbildung zeigt die Hälfte des centralen Teiles eines Melanophors von *Blennius ocellaris*. Die Zusammenballung des Melanins ist noch nicht vollständig erfolgt, vielmehr ragen noch die Basen von vier Pigmentfortsätzen eine Strecke weit aus der Pigmentscheibe hervor. Von den Rändern dieser Pigmentfortsätze gehen nun gröbere, dunklere, radiäre Streifen aus, die sich eine längere Strecke verfolgen lassen, und die wohl zusammenfallen mit den Rändern der pigmentfrei gewordenen Protoplasmafortsätze. Sonst war in diesem Präparate von den letzteren, wie gewöhnlich, nichts zu sehen; nur in zwei Protoplasmafortsätzen ließen sich zwischen den gröberen Seitenstreifen noch feine Radiärlinien undeutlich wahrnehmen, die Andeutungen der intracellulären Kanälchenwandungen.

Aber nicht allein in den pigmentfrei gewordenen Protoplasmafortsätzen der Chromatophoren bei zusammengeballtem Pigment habe ich die intracellulären, zarten Streifen, wie ich annehme, als Ausdruck der Kanälchenwand, wahrnehmen können, sondern auch bei völlig ausgebreitetem Pigment vermochte ich sie häufig zwischen den radiär strömenden Pigmentreihen auf das deutlichste und ganz unzweifelhaft festzustellen. Fig. 3 ist nach dem lebenden Objekt (Hirnhaut von *Gobius*) gezeichnet, in welchem die radiären Körnchenreihen der Melanophoren in lebhaftester Bewegung strömten. Die Abbildung stellt einen breiten Fortsatz eines Melanophors dar. Oben am peripherischen Rande und unten gegen die centrale Sphäre hat sich das Pigment noch mehr an-

gehäuft. Dazwischen ist dagegen die Körnchenmasse infolge der direkten Einwirkung des Lichtes schon zum größten Teil abgeflossen, da das Pigment bei Gasglühlichtbeleuchtung schon einige Zeit beobachtet worden war. An solchen Stellen, die durch Abwanderung des Pigmentes durchsichtiger geworden sind, habe ich nun an günstigen Präparaten (*Gobius*) ganz regelmäßig viele feinste, radiäre Streifen zwischen den Körnchenreihen gesehen, die freie Räume zwischen sich ließen, in denen die Körnchenreihen strömten. Diese Streifen waren äußerst fein und zart, aber nicht scharf begrenzt. Wären es isoliert im Protoplasma verlaufende Fibrillen, so mußten sie wohl schärfer begrenzt sein. Ich sehe daher auch diese zarten, radiären Linien als optischen Ausdruck der protoplasmatischen Kanälchenwand an. Besonders deutlich wurden sie über oder unter der Kerngegend, wenn auch hier das Melanin etwas spärlicher geworden ist. Auf diesen Umstand habe ich schon in meiner Abhandlung über die Erythrophoren von *Mullus* hingewiesen. Die betreffende Stelle (l. c. S. 303) lautet: »Es sei nur noch erwähnt, daß es mir noch nicht gelungen ist, an den pigmentlos gewordenen Fortsätzen dieser *Mullus*-Zellen die Kanälchenwandungen in ganzer Ausdehnung zu erkennen. Mein Aufenthalt in Neapel war dieses Mal zu kurz, um nach dieser Richtung hin noch eingehendere Studien nach verschiedenen Methoden anstellen zu können. Es sei nur noch betont, daß ich an dem frischen Objekt alsbald nach der Zusammenballung und dem Absterben der Zellen in dem Präparat des öfteren einige derbe, schmale, radiäre Streifen wahrnahm, welche in der Richtung der Fortsätze von der Pigmentscheibe ausstrahlten. Diese radiären Streifen schienen der Begrenzung der Fortsätze zu entsprechen, doch war es mir noch nicht möglich, die Bedeutung dieser Streifen mit Sicherheit festzustellen.

Bei genauer Einstellung der meist nur spärlichen Pigmentreihen, welche an der oberen und unteren Fläche des Kernes über letzterem in radiärer Richtung hinweggleiten, habe ich oft den bestimmten Eindruck erhalten, daß äußerst feine Linien über den Kern radiär hinwegziehen und schmale, helle Räume begrenzen, die etwa die Breite der Pigmentkörnchen haben, und in denen die Körnchen strömen. Dies schien mir der optische Ausdruck der Kanälchenstruktur des Protoplasmas zu sein.«

Diese von mir an den ausgebildeten Chromatophoren erwachsener Tiere beobachteten feineren Strukturen sind, wie ich glaube, identisch mit den von Franz an wohl noch unreifen Chromatophoren von durchsichtigen Fischlarven beschreibenen »Stäben«, nur daß hier diese Strukturen noch nicht in der feinen Ausbildung vorhanden sind, wie bei dem erwachsenen Tiere. Ich kann mich daher der Deutung von Franz, daß

es sich um ein System von starren Stäbchen zur inneren Stütze der Zelle handeln soll, nicht anschließen. Ob die gröberen Streifen, welche ich oben beschrieben habe, vielleicht dieser Aufgabe dienen und Form und Lage der zarten Protoplasmafortsätze befestigen, vermag ich noch nicht zu entscheiden.

Wahrscheinlich gehören hierher auch die von Keeble und Gamble, Doflein, Franz und neuerdings E. Degner[1]) beschriebenen »Achsenstränge oder Fibrillenstrukturen« der Crusterchromatophoren, die nur bei ausgebreitetem Pigment sichtbar sind, nach dessen Abwanderung aber unsichtbar werden; ich vermute, daß den Chromatophoren der Krebstiere im wesentlichen die gleiche Protoplasmastruktur zukommt, wie den Farbzellen der Knochenfische, da auch die Bewegungserscheinungen der Körnchen innerhalb der Crusterchromatophoren, welche von Degner kürzlich näher beschrieben worden sind, mit denen der Knochenfische die größte Ähnlichkeit haben.

Erklärung der Abbildungen.

Alle Figuren stellen Teleostier-Melanophoren oder Teile davon dar und wurden bei stärkster Zeiss-Immersionsvergrößerung (Zeiss homogen. Immersion 1,5 mm, Apert. 1,40, Kompens.-Ocul. 12), nach dem lebenden, beziehungsweise frischen, eben abgestorbenen, in physiologischer Kochsalzlösung liegenden Präparat gezeichnet.

Tafel XLI—XLII.

Fig. 1. Teil eines Melanophors mit zusammengeballtem Pigment aus der Haut von *Mullus barbatus* mit Strahlenkranz.

Fig. 2. Melanophor mit völlig zusammengeballtem Pigment aus der Haut von *Blennius ocellaris.* Die Pigmentmasse ist ringsherum von einem Kranze verschieden dicker Strahlen umgeben, deren feinere zum Teil eine körnige Zusammensetzung erkennen lassen.

Fig. 3. Stück eines Melanophors mit zum größten Teil abgewandertem Pigment, nach dem lebenden, in lebhafter Pigmentströmung begriffenen Präparat. Die Pigmentkörnchen sind in ausgesprochen radiären Reihen angeordnet, in denen sie sich auch centrifugal und centripetal bewegen. Zwischen den Pigmentreihen sind zahlreiche feinste, radiäre Linien sichtbar. Aus der Hirnhaut von *Gobius minutus.*

Fig. 4. Stück eines Melanophors mit zum größten Teil retrahiertem Pigment aus der Haut von *Blennius ocellaris.*

---

[1]) Eduard Degner, Über Bau und Funktion der Krusterchromatophoren. Eine histologisch-biologische Untersuchung. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. CII. Hft. I. 1912.



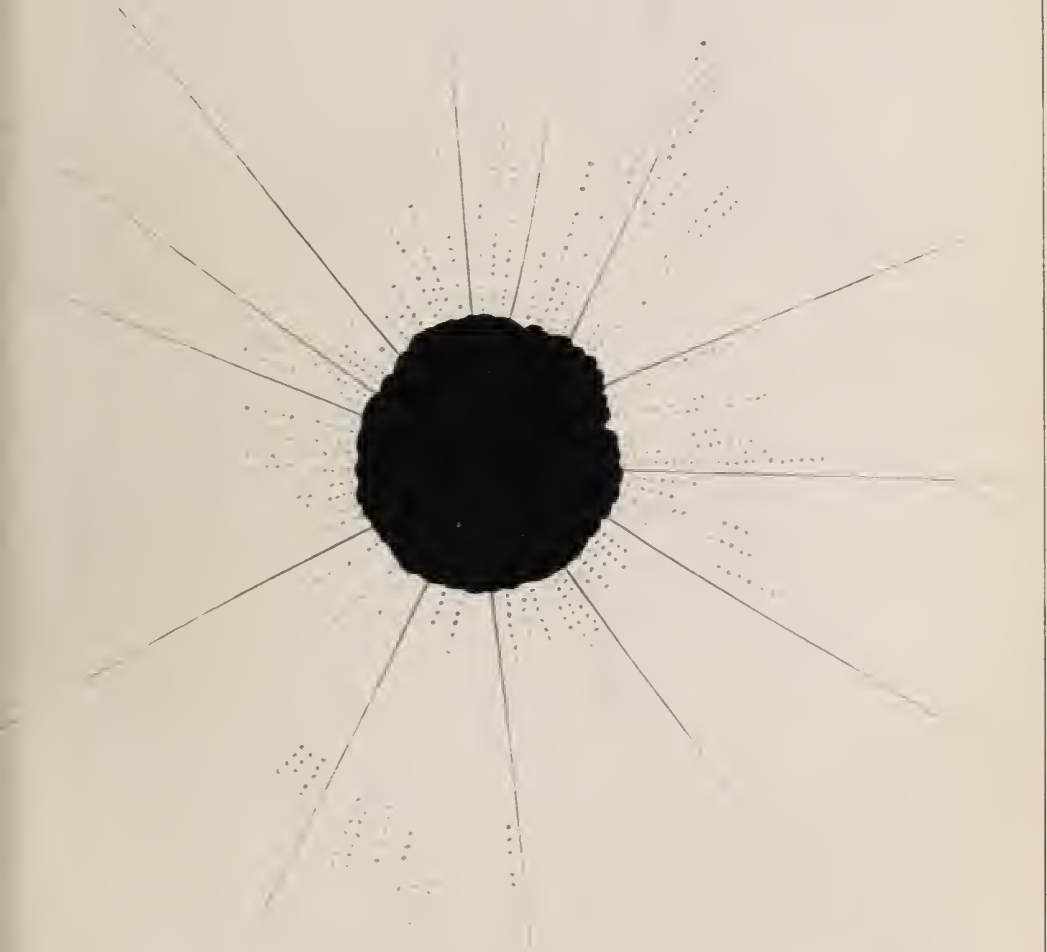
Fig. 1.

K. Schlick gez.

E. Ballowitz.

Verlag von Wilhelm E

Fig. 2.



…nann in Leipzig und Berlin.
Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



Fig. 4.

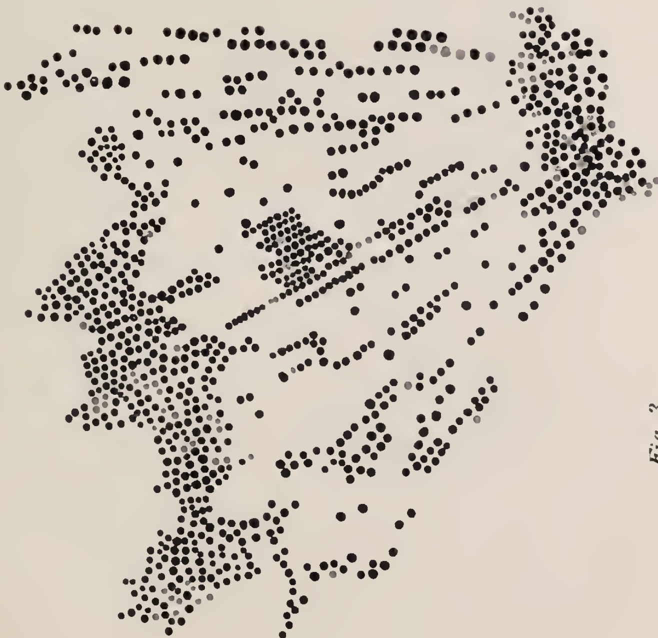


Fig. 3

K. Schlick gez.

Beiträge zur Kenntnis des Spermatozoen-Dimorphismus.

Von

Dr. Gustav A. von Kemnitz.

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Mit Tafel XLIII—XLIV.

Inhalt.

I. Einleitung.

Die Frage nach der Bedeutung des Spermatozoen-Dimorphismus im Tierreich gehört zweifellos zu denen, die ein ganz besonderes Interesse bieten, weil eine befriedigende Lösung des Rätsels bisher auch noch nicht einmal auf rein spekulativem Wege — geschweige denn auf dem genauer Beobachtung — gelang. Der Wunsch nach Aufklärung veranlaßte mich im Sommer vorigen Jahres bei *Paludina vivipara* neuerdings den Versuch zu machen, etwas über die Bedeutung der oligopyrenen Spermien zu erfahren. Wie mein Vorgänger Popoff (07) mußte ich aber sehr bald

erkennen, daß *Paludina* zur Lösung des Problems wohl so ziemlich das ungeeignetste Objekt ist, das man sich denken kann. Ich beschloß daher, die beiden andern bei uns heimischen Süßwasserprosobranchier zu untersuchen, nämlich die zwittrige *Valvata piscinalis* und die getrenntgeschlechtliche *Bythinia tentaculata*. Die Laichperiode der Tiere war aber bereits vorüber, außerdem galt es zunächst festzustellen, wie es sich bei diesen Formen mit dem Spermatozoen-Dimorphismus verhält. Mußte es doch schon ein gewisses Interesse bieten, zu erfahren, ob die hermaphrodite *Valvata* überhaupt zweierlei Spermien bildet wie ihre Verwandten oder nicht. Es sei hier gleich vorweg genommen, daß das letztere der Fall ist. *Valvata* besitzt nur normale eupyrene Spermien. Die gonochoristische *Bythinia* dagegen bringt zweierlei Spermien hervor, aber so völlig abweichend von allem bisher in dieser Richtung bekannt gewordenen, daß eine eingehende Besprechung der Resultate gerechtfertigt erscheint. — Schließlich füge ich dieser Mitteilung noch die Schilderung eines weiteren Falles von Spermatozoen-Dimorphismus aus der Gruppe der Schmetterlinge bei. Es handelt sich um einen Mikrolepidopteren, die Wachsmotte (*Galleria melonella*), bei der ich den Dimorphismus der Spermien zufällig entdeckte.

Beobachtungen über die Funktionen der atypischen Spermien kann ich, wie gleich vorweg bemerkt sei, um den Leser nicht zu enttäuschen, heute noch nicht mitteilen. Ich hoffe aber im Frühling dieses Jahres an der leicht züchtbaren *Bythinia* ein Objekt zu finden, das sich weniger spröde zeigt als die bisher untersuchten.

II. Spezieller Teil.

A. Material und Technik.

Die etwa 7—8 mm langen Bythinien[1]) unsrer Gewässer ähneln in ihrem Gehäuse sehr den bekannten Limneen, unterscheiden sich aber auf den ersten Blick von diesen durch den Besitz eines Deckels. Der Hoden liegt zum Teil in die Leber eingebettet und läßt sich nur schwer herauspräparieren, weshalb es am besten ist, die obere Hälfte des Tieres einfach in toto zu konservieren. Ebenso verfährt man bei *Valvata*. Material von der Wachsmotte, die bekanntlich in Bienenstöcken parasitiert, habe ich zum Teil käuflich erworben, zum Teil durch das Entgegenkommen des hiesigen Landesinspektors für Bienenzucht, Herrn K. Hofmann, er-

---

[1]) Für die Beschaffung des Materials sage ich dem Conchyologen der hiesigen Staatssammlung, Herrn Benefiziaten Weber, auch an dieser Stelle meinen besten Dank.

halten, dem ich ebenfalls an dieser Stelle für seine Bemühungen meinen besten Dank sage.

Als ein vorzügliches Mittel, um in wenigen Minuten einen Überblick über die Cytologie der Geschlechtszellen zu erhalten, habe ich Ausstrichpräparate befunden, die mit dem von SALKIND (12) angegebenen Polychromfärbungsgemisch simultan fixiert und gefärbt waren. Namentlich hat sich dieses Verfahren an Hodenausstrichen von *Bythinia* und der Wachsmotte bewährt. Im übrigen wurden an Ausstrichen und ganzen Stücken alle bekannteren Konservierungsmittel angewandt. Bei der Wachsmotte mit Erfolg nur die Osmiumgemische, besonders FLEMMING mit nachfolgender Bleichung der Schnitte in Wasserstoffsuperoxyd, und BENDAS Gemisch. Bei *Bythinia* und *Valvata* hat sich PETRUNKEWITSCHS Gemisch am besten bewährt. Von Färbungen wurden außer der SALKINDschen besonders Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN angewandt. Daneben auch Safranin-Lichtgrün, EHRLICH-BIONDI-HEIDENHAINS Gemisch und die BENDAsche Mitochondrienfärbung. Die Schnittdicke betrug 7,5 μ. — Nachdem ich durch ein vergleichendes Studium aller Präparate über die Art des Ablaufes der einzelnen Prozesse orientiert war, habe ich mich bemüht, die Figuren für jedes der untersuchten Objekte jeweils möglichst aus ein und demselben Objektträger zusammenzustellen, da, wie die Erfahrung lehrte, bei der Einreihung der einzelnen Stadien nur auf diese Weise einigermaßen berechtigte Rückschlüsse auf Grund von Größen- und Massenverhältnissen möglich waren.

B. Bythinia tentaculata L.

Das erste, was bei Betrachtung eines Hodenquerschnittes in die Augen fällt, sind die meist zu Dutzenden nebeneinanderliegenden Stadien der ersten Reifeteilung der atypischen Reihe[1]). Wir wollen indessen mit der typischen Reihe beginnen. Die Auseinanderhaltung beider bietet bei *Bythinia* ganz erhebliche Schwierigkeiten, da wie bei den übrigen Prosobranchiern beiderlei Entwicklungsreihen nebeneinander in ein und derselben Cyste liegen. Dazu kommt die Kleinheit der Zellen und der Mangel charakteristischer Größenunterschiede zwischen beiden Reihen. Ich war daher zunächst geneigt, anzunehmen, daß die Trennung in zwei verschiedene Reihen erst bei der Prophase der ersten Reifeteilung beginne. Später indessen begegneten mir Bilder, die stark dafür sprechen, daß ebenso wie bei *Paludina*, *Vermetus* und *Conus* bereits die jungen Spermatocyten oder gar Spermatogonien dimorph sind. Es muß freilich

[1]) Ich benutze im folgenden diese von KUSCHAKEWITSCH (13) eingeführte Bezeichnung.

zugegeben werden, daß ohne die Analogie besonders von *Paludina* diese Auffassung aus den oben genannten Gründen nicht hätte wahrscheinlich gemacht werden können.

a) Typische Reihe.

Spermatogonienmitosen sind mir verschiedentlich zu Gesicht gekommen, meist allerdings ohne daß auch nur der Versuch einer Analyse der Chromosomenzahl hätte gemacht werden können. In den Fig. 1 und 2 sind je zwei Äquatorialplatten in Polansicht wiedergegeben, die ich für Spermatogonienteilungen halten muß. Hierfür spricht:

1. Ihre Lage inmitten von Zellen, die nur als ruhende Spermatogonien oder junge Spermatocyten angesehen werden können, weshalb es sich bei den in Frage stehenden Mitosen auch nicht um solche von »Basalzellen« (Nährzellen) handeln kann.

2. Die Form der Chromosomen. Im Gegensatz zu den kugelförmigen Chromosomen der Reifeteilungen sind sie deutlich bogen- oder hakenförmig. Auf letzteren Punkt muß ich besonderes Gewicht legen, da das wichtigste Kriterium die diploide Zahl gegenüber den Prophasen I hier offensichtlich versagt, worauf noch einzugehen sein wird. Ich habe mich bemüht, durch Eintragung der Chromosomen mittels Zeichenapparat in vier Quadranten eine annähernde Zahlenbestimmung auszuführen und bin dabei zu Zahlen gekommen, die zwischen 22 und 28 liegen. Mehr als 30 Chromosomen dürften keinesfalls vorhanden sein, wie überhaupt nicht eine einzige Mitose mit höherer Chromosomenzahl beobachtet werden konnte. Ich muß ferner ausdrücklich bemerken, daß die in Fig. 1 und 2 abgebildeten vier Mitosen jeweils in ein und demselben Schnitt liegen, daß also Zählungsfehler durch Anschneiden der Zellen ausgeschlossen sind.

Die Stadien der Wachstumsperiode folgen in bekannter Weise aufeinander. In Fig. 3 sind junge Spermatocyten dargestellt, darauf folgt in Fig. 4 die Chromatisierung des Kernnetzes unter Verschwinden der Nucleolen, hierauf das leptotäne Stadium der Fig. 5, an das sich eine deutliche Synapsis (»Synezisis«) — Fig. 6 — anschließt. Es reiht sich daran das pachytäne Stadium der Fig. 7 und die diplotänen der Fig. 8 und 9, auf denen die Desorientierung und allmähliche Kondensierung der Schleifen zu den deutlich bivalenten Elementen der Prophase I (Fig. 10, 11 und 12*a—d*) zu erkennen ist[1]. Auf dem Stadium der Pro-

[1]) Auf eine genaue Schilderung der synaptischen Stadien bei der kleinzelligen *Bythinia* verzichte ich um so lieber, als ich an *Paludina* ein Objekt gefunden habe, das gestattet, jene Prozesse mit seltener Klarheit zu verfolgen. Ich beabsichtige, darauf in einer besonderen Abhandlung einzugehen und will hier nur andeuten, daß Hoden-

phase I läßt sich eine genauere Zählung der Chromatinelemente vornehmen. Die Fig. 10 und 12 beziehen sich auf Schnittpräparate, die Fig. 11 dagegen auf ein — etwas gepreßtes — Ausstrichpräparat. Eine größere Reihe von Zählungen haben mir stets Zahlen zwischen 24 und 28 geliefert. An eine Zahl, die der Hälfte, also etwa 12—14 entspricht, ist garnicht zu denken. Ebensowenig aber kann aus den Spermatogonienmitosen die doppelte Zahl der in der Prophase I erscheinenden Elemente — also mindestens 50 — herausgelesen werden. Wir stehen also vor der überraschenden Tatsache, daß trotzdem alle synaptischen Stadien deutlich in Erscheinung treten, trotzdem die Prophasenelemente unzweideutig bivalentes Gepräge tragen, ihre Zahl doch annähernd die gleiche ist, wie die der Spermatogonienmitosen.

Die Reifeteilungen bieten im übrigen nichts Besonderes. In Fig. 12*d* ist eine Äquatorialplatte in Polansicht, in Fig. 12*e* eine ebensolche in Seitenansicht abgebildet. In der Zellgruppe der Fig. 13 zeigt *a* eine frühe Anaphase in schräger Lage (daher die große Zahl der Chromosomen), *b*, *c*, *d* und *e* Anaphasen in verschieden weit vorgerücktem Stadium, 13*f* endlich eine Telophase I. Fig. 14 stellt Seitenansichten von Äquatorialplatten der zweiten Reifeteilung dar, Fig. 15 und 16 ihren weiteren Ablauf. In der Mehrzahl der Fälle konnte ich während der zweiten Reifeteilung einen mit E.H. sich intensiv färbenden Körper bemerken (vgl. Fig. 14 und 16), der durch die zweite Reifeteilung einer Spermatide zugewiesen wird. Er erinnert oberflächlich an den »Chromatoid body«, den Wilson (13) bei »*Pentatoma*« gefunden hat und darf wohl als Spindelrest oder mitochondriale Substanz aufgefaßt werden. Der Körper ist meist in annähernd einem Viertel der beieinanderliegenden jungen Spermatiden zu sehen. In andern Fällen war er aber während der ganzen zweiten Reifeteilung nicht sichtbar.

Die nun folgende Spermiogenese ist bei *Bythinia* schwer zu verfolgen, da das Objekt zu kleinzellig ist. In den Fig. 17—24 ist eine Reihe von Stichproben abgebildet, die lehren, daß der Prozeß im wesentlichen so abläuft, wie es an Prosobranchiern Meves (02) für *Paludina*, Kuschakewitsch (13) für *Vermetus* und *Conus* geschildert haben. In den oberen Abschnitten des Vas deferens haben die eupyrenen Spermien noch die Gestalt der Fig. 24. Die Streckung des Kopfes erfolgt also erst sehr spät und führt schließlich zu den in Fig. 25 abgebildeten fertigen eupyrenen Spermien.

ausstriche mit Sicherheit die Feststellung erlauben, daß bei *Paludina* die Chromosomenkonjugation eine spiralige ist. So läßt sich im Pachynema klar erkennen, daß jede der bivalenten Schleifen eine Doppelspirale darstellt.

b) Atypische Reihe.

Die Diagnose früher Stadien der Wachstumsperiode aus der atypischen Reihe bereitet, wie schon erwähnt, erhebliche Schwierigkeiten. Ich kann daher die Stadien der Fig. 26—28 nur mit einer gewissen Reserve an den Anfang dieser Reihe stellen. Immerhin scheint es mir ziemlich sicher, daß ebenso wie bei den von Kuschakewitsch untersuchten Formen, besonders aber wie bei *Paludina* synaptische Stadien in der atypischen Reihe fehlen. Auf ein Stadium der Ruhe (Fig. 26 *a—e*) folgen Stadien, die durch eine stärkere Kondensierung des Chromatins an der Peripherie ausgezeichnet sind. Es folgen die in der Zeichnung schwer wiederzugebenden Stadien der Fig. 27 und 28. Zunächst erfolgt eine etwas schärfere Herausarbeitung der chromatischen Elemente (Fig. 27 bis 28*b*), die aber bald wieder durch ihre Tendenz, sich an einem Pol zu sammeln (Fig. 28*d* und *e*) oder sich an die Kernmembran dicht anzudrängen (*c*), verwischt wird. Diese Bilder erinnern an die Bukettstadien der typischen Reihe. Noch mehr tritt diese Analogie etwas später in den Fig. 29*a* und *b* hervor, die im Präparat fast den Eindruck schlecht konservierter echter Bukettstadien erwecken. Es folgt nun ein — sehr kurz dauerndes — Stadium noch schärferer Herausdifferenzierung der Prophasenelemente (Fig. 29*c* und *d*), das aber sehr bald den folgenden der Fig. 30 und 31 Platz macht. Während bei den Prophasen I der typischen Reihe die Chromosomen wie mit gleichem Abstand voneinander abgezirkelt, im Kernraum liegen, zeigen sie in der atypischen Reihe die Tendenz, sich zusammenzuscharen und untereinander zu verklumpen. Die Chromosomen machen dabei einen eigentümlich hohlen Eindruck. Auf diesem Stadium läßt sich auf den ersten Blick eine atypische Spermatocyte von einer typischen unterscheiden. Die Verklumpung der Chromosomen hält sich anfangs in mäßigen Grenzen (Fig. 30), so zwar, daß sich zunächst noch annähernd 24—28 Elemente feststellen lassen (Fig. 29*c* bis 31*b*). Hierbei treten nochmals Bilder auf, die stark an jene Bukettstadien erinnern, in denen die Schleifen einen Aufbau aus Chromiolen erkennen lassen. Später indessen ist eine genaue Angabe über die Zahl der Chromosomen kaum mehr möglich (Fig. 31 und 32). Bei Zählungen bewegt sich das Resultat anfangs um 20 herum (Fig. 32). Später liegt die Zahl der noch individualisierten Elemente zwischen 10 und 15 (Fig. 33 und 34). Bereits etwas früher (Fig. 32) treten die Centriolen auf, von denen das eine, welches dem dichten Chromosomenhaufen gegenüberliegt, stets deutlich erkennbar ist, während der gegenüberliegende Partner meist verdeckt ist. Inzwischen schreitet die Chromosomenverklumpung

weiter fort und führt über Bilder wie Fig. 33, 34*a* und *b*, 35*a*, zu Stadien, die den Fig. 35*b*, 36 und 37*a* entsprechen. Ihre Merkmale sind dadurch gegeben, daß einem dichten, aus den mehr oder weniger miteinander verschmolzenen Chromosomen bestehenden Körper eine Gruppe von meist zwei, manchmal aber auch drei bis vier oder nur ein Chromosom gegenüberstehen, die infolge der nunmehr einsetzenden Teilung der Zelle an den einen Pol wandern, während der hyperpyrene Restkörper — wie wir ihn von jetzt ab nennen wollen — Centrum des andern Teilproduktes wird (Fig. 37*a*, 38*b* und 39). Das Resultat sind demnach zwei Zellen, von denen die eine jenen massigen chromatischen Restkörper enthält (Fig. 34*e*, 37*b*, 38*b*, 38*c*, 40*d*, 42*g*, 44*d* und *c*), während die andre oligopyrene einen Chromatinbestand von ein bis vier Chromosomen hat. Die Frage ist nun, welche Wertigkeit diese Chromosomen besitzen. Ein Entscheid ist in dieser Richtung sehr schwer zu fällen, da, wie wir oben sahen, die Tendenz zur Verklumpung der Chromosomen bereits sehr früh einsetzt, und es daher völlig ausgeschlossen ist, mit Sicherheit festzustellen, ob wir in jenen ein bis vier Chromosomen bereits Verschmelzungsprodukte vor uns haben oder nicht. Der Sachverhalt dürfte wohl so liegen, daß die oligopyrene Spermatocyte im allgemeinen zwei bivalente Chromosomen erhält (Fig. 34*d*, *e*, *f*, 35*b*, Fig. 36*c*, *d*, *e*). Diese beiden bivalenten Chromosomen können aber ihrerseits wieder zu einem Körper verschmelzen, wobei ihre Valenz meist noch sichtbar bleibt (Fig. 37*a*, 39*b* und *c*), oder aber die Bivalenz wird bereits durch frühzeitige — manchmal sich nur auf ein Element erstreckende — Zweiteilung aufgehoben, wodurch zwei univalente und ein bivalentes, oder vier univalente Elemente entstehen (Fig. 35*c*, 36*a*, *b*, *c* und 38*a*).

Der hyperpyrene Restkörper erleidet keine weitere Teilung. Die oligopyrene Spermatocyte zweiter Ordnung dagegen macht offenbar eine nochmalige Teilung durch, wie auf Fig. 37*c* und *d*, 40*a*, *b* und *c* zu sehen ist. Außer diesen sehr deutlichen Metaphasen, in denen die Vierwertigkeit, wenn es sich um einen Körper, die Bivalenz, wenn es sich um zwei handelt, meist sehr deutlich zutage tritt, sind mir weitere Stadien — besonders Anaphasen — nicht zu Gesicht gekommen. Für eine nochmalige Teilung der oligopyrenen Spermatocyten zweiter Ordnung spricht auch der Umstand, daß die Zahl der atypischen Spermatiden meist beträchtlich größer ist, als die der hyperpyrenen Restkörper, was unverständlich wäre, wenn nur eine Teilung erfolgte. Das Resultat ist jedenfalls eine oligopyrene Spermatide mit einem bivalenten oder zwei univalenten Chromosomen (Fig. 34*d*, *e*, *f*, 41*a*, *b*, *c*, 43*c*, *d*, *e*). — Es liegt in der Natur des sehr kleinen Objektes, daß über einige zuletzt besprochene

Punkte, besonders bezüglich der Valenzfrage, völlige Sicherheit nicht zu erlangen war.

Verfolgen wir nun die weiteren Schicksale des hyperpyrenen Restkörpers und der oligopyrenen Spermatide. Der Restkörper macht in manchen Fällen noch Anstrengungen zur Spermienbildung. Er kann seinen kompakten Zustand einbüßen und zu einer dickwandigen Blase werden (Fig. 44*d*), die sich eindellen (Fig. 45*b*) und sogar Anläufe zur Spitzenstück- und Schwanzbildung machen kann (Fig. 45*a* und *c*). Dann aber ist sein Schicksal besiegelt: er wird wieder kompakt und verrät in nichts mehr seine Zusammensetzung aus einzelnen Chromosomen (Fig. 46*d* und *e*, Fig. 47*d* und Fig. 51); in diesem Zustande findet man die hyperpyrenen Restkörper massenhaft am Beginn des Vas deferens, in das sie aber nicht mit hinübertreten.

Die oligopyrenen Spermatiden hingegen durchlaufen eine regelrechte Histogenese, deren Details sich allerdings infolge der Kleinheit der genauen Verfolgung entziehen. Stichproben sind in den Fig. 42—44, 46 und 47 abgebildet. Fig. 48 zeigt ein Bündel oligopyrener Spermien nach fast beendeter Histogenese, Fig. 49 ein einzelnes oligopyrenes Spermium, so wie man sie am Beginn des Vas deferens findet. Man vergleiche nun die Fig. 24 (eupyrenes Spermium) mit der Fig. 49 (oligopyrenes Spermium) und der Fig. 51. Alle drei liegen im Präparat dicht nebeneinander — natürlich neben Dutzenden von jeweils identischer Art — und sind peinlichst genau mit dem Zeichenapparat in richtigen Größenverhältnissen wiedergegeben. In den unteren Abschnitten des Vas deferens findet man, wie bereits erwähnt, die Restkörper nicht mehr. Sie werden also bei der Begattung offenbar nicht mit ins weibliche Receptaculum übergeführt. Die Fig. 50 zeigt ein fertiges oligopyrenes Spermium aus dem unteren Teil des Vas deferens. Ein Vergleich mit Fig. 25 — beide Figuren (natürlich unter peinlichster Einhaltung der richtigen Größenverhältnisse) stammen aus demselben Gesichtsfeld im Präparat — veranschaulicht deutlich die Größenverhältnisse beider Spermienarten.

Die oligopyrenen sind demnach ein getreues, nur etwa auf ein Fünftel verkleinertes Abbild der eupyrenen Spermien. Im Leben sind sie wie jene äußerst beweglich.

In Fig. 52*a* und *b* sind die Schnitthälften einer Zelle abgebildet, deren Art sich nicht sicher feststellen läßt. Die Zelle liegt inmitten einer großen Zahl von atypischen Spermatocyten, die sich ungefähr auf Stadien, die den Fig. 27—29*b* entsprechen, befinden. Ich halte es demnach für sehr wahrscheinlich, daß es sich um eine pathologische atypische Spermatocyte handelt. Die Zahl der Chromosomen liegt um 30 herum. Weitere

Zellen dieser Art habe ich nicht gefunden, ein Umstand, der wohl ebenfalls dafür spricht, daß es sich um eine vereinzelte pathologische Erscheinung handelt.

C. Valvata piscinalis.

Die Beobachtungen an diesem einzigen hermaphroditen Süßwasserprosobranchier lassen sich in wenige Sätze zusammenfassen. Das für uns wichtigste Ergebnis liegt, wie bereits oben mitgeteilt. darin, daß *Valvata* nur einerlei typische Spermien bildet. Nach Feststellung dieser Tatsache schien mir ein näheres Eingehen auf im übrigen in nichts von Bekanntem abweichende Verhältnisse überflüssig. Ich lasse daher hier nur eine kurze Erläuterung zu den beigegebenen Figuren folgen. Fig. 53 zeigt eine nach Zahl, die ungefähr 20 beträgt, und Form der Chromosomen unzweideutig als Spermatogonie zu charakterisierende Zelle. Es folgen die typischen synaptischen Stadien. Darauf die Prophasen I mit deutlich zählbaren zehn bivalenten Elementen (Fig. 54). Fig. 55*a* zeigt eine Metaphase I in Polansicht, Fig. 55*b* eine frühe Anaphase I in Seitenansicht. Auf die in Fig. 56 wiedergegebene Interkinese folgt die zweite Reifeteilung, die in Fig. 57 und 58 abgebildet ist. Das Resultat der Spermiogenese sind Spermien, wie eines in Fig. 59 wiedergegeben ist (der Schwanzfaden ist nur etwa zur Hälfte abgebildet). Also in jeder Richtung eine normale Spermatogenese ohne irgendwelche Komplikationen.

D. Galleria melonella Fabr. (Wachsmotte).

Meves (02) hat Spermatozoen-Dimorphismus außer bei *Pygaera* auch noch bei den ebenfalls zu den Spinnern gehörigen Arten *Gastropacha rubi*, *Bombyx mori* und *Harpyia vinula* beobachtet, ohne allerdings über Einzelheiten zu berichten. Ich hatte mir für andre Zwecke Material der Wachsmotte beschafft und konnte an einem zufällig angefertigten Hodenausstrich, der nach Salkind (12) simultan fixiert und gefärbt worden war, auf den ersten Blick feststellen, daß Spermatozoen-Dimorphismus vorliegt. Da die Wachsmotte zu den Kleinschmetterlingen gehört, so ist nach Analogie mit dem stets gruppenweise (Prosobranchier! Spinner!) auftretenden Spermiendimorphismus zu erwarten, daß bei den übrigen Kleinschmetterlingen, speziell aber bei den Motten, ähnliche Verhältnisse weit verbreitet sein werden.

Es sei vorausgeschickt, daß die Verhältnisse bei der Wachsmotte im Prinzip völlig mit denen durch Meves (02) und jüngst durch Federley (13) bei *Pygaera* geschilderten übereinstimmen. Ich halte es daher, um Wiederholungen zu vermeiden, für zweckmäßig, die Vorgänge nur

in großen Zügen zu schildern und mich auf bereits bekannte Einzelheiten nicht weiter einzulassen.

Wie bei *Pygaera* werden auch bei der Wachsmotte — im Gegensatz zu den Prosobranchiern — die zweierlei Spermien in getrennten Cysten gebildet, so daß die Auseinanderhaltung beider Zellreihen viel leichter durchzuführen ist, als bei *Bythinia*. — Wir wollen wieder beginnen mit der

a) **Typischen Reihe.**

Die in Fig. 60 abgebildete Zelle muß ich für eine ruhende Spermatogonie halten und zwar deshalb, weil die jungen Spermatocyten fast stets noch den Spindelrestkörper der letzten Teilung im Plasma erkennen lassen (Fig. 63), der meist noch bis zum Beginn des leptotänen Stadiums sichtbar bleibt. Das Plasma zeigt bei Flemming- und Benda-Fixierung reichlich Mitochondrien. In Fig. 61 sind Spermatogonienmetaphasen in Pol- und Seitenansicht abgebildet. Auf Fig. 61 *a* läßt sich die Chromosomenzahl auf ungefähr 60 bestimmen. Nach einer Reihe von Teilungen, deren Zahl sich nicht genau ermitteln läßt, beginnt die Wachstumsperiode. Die jungen Spermatocyten kann man, wie erwähnt, leicht an den noch erhaltenen Spindelrestkörpern erkennen. Sie sind zwar nicht so scharf ausgebildet, wie Maziarsky (13) es für das Ovar der Honigbiene geschildert hat, aber doch meist gut erkennbar. Es folgen typische synaptische Stadien, die denen bei *Pygaera* von Federley (13) abgebildeten durchaus ähneln. Ich beschränke mich deshalb auf die Wiedergabe der Fig. 64. Nach dem pachytänen Stadium setzt dann ein sehr beträchtliches Wachstum ein. Nach den Figuren Federleys zu schließen — Meves hat die frühen Stadien nicht abgebildet — ist es bei *Pygaera* ebenso. Ein Vergleich der Spermatogonienäquatorialplatte (Fig. 71 *b*), mit der Metaphase I der Fig. 68 lehrt, daß das Volumen ungefähr auf das acht- bis zehnfache gestiegen ist. Auf späteren Wachstumsstadien (Fig. 65) werden meist dicht an der Kernmembran die Centriolen der Reifungsteilungen mit ihren Geißeln — genau wie bei *Pygaera* — sichtbar. Auf dem Stadium der frühen Prophase (Fig. 66) ist bereits ihre Zweiteilung durchgeführt. Die Chromosomen zeigen auf diesem Stadium die bekannte »Semmelform«. Auf diesen, besonders aber den folgenden Stadien (Fig. 67), läßt sich eine genaue Zählung der Chromosomen vornehmen. Eine Reihe von Zählungen hat mir stets die Zahl 30 geliefert, womit die annäherungsweise festgestellte Zahl 60 der Spermatogonienmitosen gut übereinstimmt. Wie hier gleich eingeflochten werden möge, habe ich weder in der geraden Zahl, noch in Größenunterschieden der Chromosomen, noch durch besonderes Verhalten in der Wachstums-

periode und den Reifeteilungen Anhaltspunkte für die Anwesenheit von Geschlechtschromosomen finden können. Dieser Umstand ist eine weitere Stütze für die Auffassung von DONCASTER (11, 12), GOLDSCHMIDT (13) und SEILER (13), wonach bei Schmetterlingen das weibliche Geschlecht das heterogamete ist. — In Fig. 68 ist eine Metaphase I in Seitenansicht dargestellt. Es folgt eine frühe Anaphase I in Fig. 69*a* und eine späte in Fig. 69*b*. Fig. 70 zeigt eine Telophase I. Die Fig. 71—74 beziehen sich auf die zweite Reifeteilung. Auf eine Illustration des Verlaufes der Spermiogenese glaube ich verzichten zu dürfen, da die Schilderungen von MEVES und FEDERLEY unverändert auch für die Wachsmotte übernommen werden können. In Fig. 89, der ein mit EHRLICH-BIONDI-HEIDENHAIN gefärbtes Ausstrichpräparat zugrunde liegt, ist ein fertiges eupyrenes Spermium unter möglichst genauer Einhaltung der richtigen Größenverhältnisse abgebildet. Es unterscheidet sich insofern von den typischen Spermien bei *Pygaera*, als das lange »nadelförmige« Spitzenstück fehlt.

Mit wenigen Worten sei nur noch auf das Verhalten der Mitochondrien eingegangen. So riesige Mitochondrienmengen, wie sie MEVES in seiner Nebenkernarbeit (00) abbildet, habe ich weder bei BENDA- noch bei FLEMMING-Fixierung beobachten können. Häufchen von Mitochondrien finden sich bereits in den Spermatogonien (Fig. 60—62). Während der Wachstumsperiode aber scheint ihre Menge nicht sonderlich zuzunehmen. Erst in den Prophasen der ersten Reifeteilung schwellen sie zu markanteren Bläschen an (Fig. 66 und 67) und konfluieren dann zu einer oder mehreren größeren Blasen (Fig. 68—70). Besonders das in der Fig. 70 dargestellte Stadium ist höchst charakteristisch für die erste Reifeteilung. MEVES hat dieses Zusammenfließen der Mitochondrien zu Blasen bei *Pygaera* ebenfalls beobachtet. Der ganze Apparat ist aber dort viel mächtiger entfaltet. — Im Verlauf der zweiten Reifeteilung habe ich die Blasenbildung der Mitochondrien nie so auffällig ausgebildet gefunden, wie in der ersten. Es erfolgt vielmehr eine mehr oder weniger regelmäßige Verteilung der voneinander getrennt bleibenden Bläschen auf beide Pole (Fig. 71—74).

b) Atypische Reihe.

In Fig. 75 ist eine junge Spermatocyte abgebildet, die wohl zur atypischen Reihe gerechnet werden muß, da, wie eine Inspektion der Fortsetzung dieser Hodencyste lehrt, in ihr später atypische Reifeteilungen auftreten. Wie bei *Pygaera* und den Prosobranchiern fallen in der atypischen Reihe die synaptischen Stadien aus. Gegen Ende des Wachstums verdichtet sich das Kernreticulum allmählich (Fig. 76) und es treten die

Prophasenelemente hervor (Fig. 77). Wie zu erwarten, fehlt ihnen die charakteristische, die Bivalenz verbürgende »Semmelform«. Die Zahl der Chromosomen liegt jedenfalls in der Nähe von 60, wenn auch eine einwandfreie Zählung sich nicht durchführen läßt. Auch alle weiteren Stadien ähneln in hohem Grade den bei *Pygaera* bekannt gewordenen. Ohne Ausbildung einer regelrechten Äquatorialplatte (Fig. 78) verteilen sich die Chromosomen auf beide Pole (Fig. 79), wobei ich es ebenso wie Meves und Federley unentschieden lasse, ob dieser Vorgang mit oder ohne bzw. teilweiser Zweiteilung der Chromosomen verbunden ist (Fig. 79). Jedenfalls ist in den Ana- und Telophasen der ersten Reifeteilung, wie in den Tochterzellen höchstens noch die haploide Zahl festzustellen, indem einzelne Chromosomen durch Substanzverlust immer kleiner werden und schließlich völlig verschwinden (Fig. 80 und 81). Die zweite Reifeteilung erfolgt im Prinzip wie die erste. Es findet ohne Einschaltungen einer Metaphase eine unregelmäßige Verteilung der noch übrig gebliebenen Chromosomen statt (Fig. 81 und 82), wobei abermals eine Anzahl Chromosomen, ohne daß sie zuvor Bläschenform angenommen haben, aufgelöst werden. Das Resultat ist eine Spermatide, in der ungefähr noch zehn bis zwölf Chromosomen auffindbar sind, die allmählich zu Bläschen anschwellen (Fig. 83 und 84). Der weitere Verlauf der Spermiogenese bietet im großen und ganzen gegenüber den Schilderungen von Meves und Federley an *Pygaera* nichts Neues. Ich habe daher auch, ebenso wie bei der Histogenese der typischen Reihe, auf eingehende Illustrationen verzichtet, um die Zahl der Tafeln nicht zu erhöhen. Die zu Bläschen angeschwollenen und anscheinend teilweise miteinander verschmolzenen Chromosomen (Fig. 84 und 85) scheinen im weiteren Verlaufe der Spermiogenese kleinste Karyomeriten abzuschnüren (Fig. 86), wodurch Bilder entstehen, die gewisse Ähnlichkeit mit denen haben, die vielfach als Ausdruck einer Chromidienbildung aufgefaßt wurden, und wie sie in jüngster Zeit von Buchner (13) bei der Eibildung von Ichneumoniden u. a. beobachtet wurden. Indem die feinen chromatischen Körnchen sich im Plasma auflösen, nimmt die chromatische Substanz der atypischen Spermatiden fortwährend ab. Über Stadien, auf denen die noch restierenden Chromosomenbläschen pyknotisch werden (Fig. 87) und endlich völlig verschwinden, wird schließlich das Endziel des ganzen Prozesses erreicht: das völlig chromatinfreie apyrene Spermium. In Fig. 88 ist ein solches — aus dem gleichen mit Ehrlich-Biondi-Heidenhain gefärbten Ausstrichpräparat wie das eupyrene Spermium der Fig. 89 stammend — abgebildet. Von chromatischer Färbung eines »Kopf«-Abschnittes ist keine Spur zu erkennen. Während bei *Pygaera* die eupyrenen Spermien etwa

vier- bis fünfmal so lang sind, wie die apyrenen, beträgt bei der Wachsmotte das Plus an Länge der eupyrenen Spermien gegenüber den apyrenen nur etwa ein Drittel.

Über das Verhalten der Mitochondrien ist nicht viel zu sagen. Wie in der typischen Reihe fließen auch in der atypischen, die während der Wachstumsperiode zu beobachtenden Mitochondrien kurz vor der ersten Reifeteilung zu größeren Bläschen zusammen und strecken sich im Verlauf der Durchschnürung stark in die Länge (Fig. 79). Ihr weiteres Schicksal ist schwer zu verfolgen, da Chromosomen- und Mitochondrienbläschen sich selbst mit der BENDAschen Methode kaum unterscheiden lassen. Ich begnüge mich daher mit diesen kurzen Andeutungen.

III. Allgemeiner Teil.

A. Vergleich der Spermatogenese von Bythinia tentaculata mit der der übrigen Prosobranchier.

Wenn man versucht, die Spermatogenese der atypischen Reihe bei *Bythinia* in die bei andern Prosobranchiern bekannt gewordenen Verhältnisse einzuordnen, so stößt man auf erhebliche Schwierigkeiten. Die bisher von KUSCHAKEWITSCH (13) untersuchten marinen Formen *Vermetus* und *Conus* zeigen die beträchtlichsten Abweichungen. Bei beiden Formen entstehen große unbewegliche, völlig apyrene Spermien, und zwar meist ohne Teilungen aus den Spermatocyten erster Ordnung. Teilungsversuche werden zwar gemacht, verlaufen aber resultatlos. Nur bei *Conus* wurden Teilungen beobachtet, und zwar auf einem Stadium, wo die Spermatocyten schon fast apyren sind. Am meisten erinnern die Verhältnisse bei *Bythinia* noch an die von *Paludina*, wie sie MEVES geschildert hat. Wie erinnerlich, verläuft hier der Prozeß in der Weise, daß die synaptischen Stadien ausfallen, in der Prophase I die normale Zahl der Chromosomen auftritt und diese nach Zweiteilung in die Tochterzellen eingehen. Aber noch während der Teilung lösen sich einzelne Chromosomen auf. Nur je vier verschmelzen zum Ruhekern der Spermatocyte zweiter Ordnung. Das Resultat der zweiten Reifeteilung ist dann, daß von den vier Chromosomen nur je eins erhalten bleibt und später den Kopf des oligopyrenen Spermiums bildet, während die übrigen drei sich auflösen. Ähnliche Verhältnisse schildert STEPHAN (03, 03 a, 03 b, 03 c) bei den marinen Prosobranchiern *Murex trunculus* und *brandaris*, *Cerithium vulgatum*, *Nassa mutabilis* und *Triton nodifer*. Bei *Murex*, *Nassa* und *Triton* entstehen völlig apyrene Spermien, bei *Cerithium* dagegen bleibt wie bei *Paludina* ein Chromosom erhalten. LAMS (10 a)

der die beiden *Murex*-Arten ebenfalls untersucht hat, kommt zu dem Resultat, daß die atypischen Spermien niemals ganz apyren werden.

Wenn wir zunächst die atypischen Reifeteilungen von *Bythinia* ins Auge fassen, so liegt auf der Hand, daß keiner der von Prosobranchiern und Schmetterlingen bekannt gewordenen Fälle ähnliche Verhältnisse aufweist. Die Ansammlung derjenigen Chromosomen, die dem Untergang geweiht sind, an einem Pol, die Bildung des hyperpyrenen Restkörpers, kurz die Art und Weise, wie hier die Chromosomeneliminierung bewirkt wird, sind Erscheinungen sui generis[1]).

Was die Vorstadien der Reifeteilungen anlangt, so hat bereits Kuschakewitsch (13) bei *Conus* und *Vermetus* interessante Anläufe zur Durchführung synaptischer Stadien beobachtet, so daß es nicht weiter wundernehmen kann, wenn bei *Bythinia* Ähnliches, wenn auch im einzelnen abweichend, beobachtet wurde. Wenn erst einmal die gesamten Prosobranchier vergleichend spermatogenetisch untersucht worden sind, werden wir sicher vor einer beträchtlichen Variationsbreite dieser Phänomene stehen.

Was nun die ausgebildeten atypischen Spermien betrifft, so finden wir bei *Bythinia* ein ganz neues Prinzip realisiert. Auf der einen Seite die Bildung sehr kleiner, im übrigen aber völlig normal aussehender Spermien, anderseits die von hyperpyrenen Restkörpern. Wir sahen bereits, daß letztere wohl noch vergebliche Ansätze zur Spermienbildung machen können, dann aber pyknotisch degenerieren. Nur die kleinen, im Leben äußerst beweglichen oligopyrenen Spermien finden sich zusammen mit den eupyrenen im Vas deferens. Hier kann man sie als Spermien kaum erkennen, wenn man ihre Entstehung nicht beobachtet hat. So sind sie denn auch Retzius (06), der die ausgebildeten Spermien von *Bythinia* untersuchte, entgangen. Er bildet nur die eupyrenen ab und berichtet, daß er nur einerlei Spermien habe finden können.

Wenn wir uns nun der Diskussion der Befunde in der typischen

---

[1]) Auf den ersten Blick scheint es, als läge hier eine Erscheinung vor, die Ähnlichkeit hat mit gewissen andern Fällen, in denen die eine Hälfte der Spermatocyten zweiter Ordnung bzw. Spermien degeneriert. Es sind das die Fälle mit Geschlechtschromosomen, die durch Heterogonie kompliziert werden. Bekanntlich gehen in der Spermatogenese von *Aphis saliceti* (v. Baehr, 09) und *Phylloxera* (Morgan, 09) diejenigen Spermatocyten zweiter Ordnung, in die kein Geschlechtschromosom gelangt ist — also die mit kleinerer Chromosomenzahl — zugrunde, da bei der Befruchtung stets Weibchen mit gerader Geschlechtschromosomenzahl entstehen. Bei *Angiostomum* liegen nach den Untersuchungen von Boveri (11) und Schleip (11) die Verhältnisse ähnlich. Die Analogie zwischen diesen Fällen und *Bythinia* ist aber doch nur eine scheinbare, wie sich wohl ohne weitere Diskussion ergibt.

Reihe zuwenden, so wird es sich dabei hauptsächlich um eine Besprechung der Zahlenverhältnisse der Chromosomen handeln. — Wir sahen, daß in den Spermatogonienmitosen annähernd die gleiche Chromosomenzahl (24—28) wie in den Reifeteilungen auftritt und trotzdem die ganze Reihe der synaptischen Stadien zu beobachten ist.

Es gilt nun zunächst festzustellen, ob die beobachteten Spermatogonienmitosen wirklich solche sind oder ob es sich vielleicht doch um Reifeteilungen handelt. Das in solchen Fällen wichtigste Kriterium, die Zahl, versagt, wie wir wissen, vollständig. Die Chromosomenzahlen der uns hier interessierenden Mitosen stehen zueinander nicht im Verhältnis 1 : 2. Es kann nicht der geringste Zweifel darüber bestehen, daß in den Prophasen I die Zahl nicht niedriger als 22 ist. Ebensowenig läßt sich daran zweifeln, daß die Zahl der Chromosomen in den als Spermatogonienmitosen bezeichneten Figuren nicht mehr als 28 beträgt. Als weiteres Kriterium für die Frage, ob es sich um Spermatogonien oder Reifeteilungen handelt, kommt die Form der Chromosomen in Betracht. Hier ist nun kein Zweifel möglich: die Chromosomen, in den als Spermatogonien bezeichneten Figuren haben deutliche Haken- oder Bogenform, während die der Reifeteilungen stets kugelförmig ist. Es ist ja eine wohlbekannte Tatsache — vgl. Diskussion darüber bei GRÉGOIRE (10) — daß die Form der Chromosomen der heterotypischen Reifungsmitosen eine wesentlich andre ist als die in somatischen oder gonialen Mitosen. Diese Regel findet man auch überall bei Mollusken bestätigt, vgl. u. a. MEVES (02), BONNEVIE (06), DEMOLL (12), KUSCHAKEWITSCH (13), BALTZER (13). Also auch die Form der in Rede stehenden Chromosomen spricht für Spermatogonienmitosen. Endlich muß betont werden, daß auch die Lage dieser Zellen inmitten solcher, die sich etwa auf Stadien, die den Fig. 3, 4 oder 26 entsprechen, befinden, auf goniale Mitosen hinweist. Um pathologische Zellen kann es sich ihrem Äußeren nach unter keinen Umständen handeln. Auch stammen Fig. 1 und 2 von verschiedenen Tieren, von denen das eine mit PETRUNKEWITSCH, das andre nach BENDA fixiert wurde. Die betreffenden Zellen liegen dicht am äußeren Rande des Hodens. Selbstredend wurden gleiche Bilder mehrmals beobachtet. Im ganzen sind mir etwa 2 Dutzend Spermatogonienmitosen zu Gesicht gekommen, die sich auf fünf, verschieden fixierte, Tiere verteilen. In keinem einzigen Falle aber konnte eine höhere Chromosomenzahl festgestellt werden. Es bleibt also keine andre Möglichkeit, als die, daß es sich um Spermatogonienmitosen handelt. Für die Zahlenverhältnisse der Chromosomen innerhalb der atypischen Reihe ergeben sich hieraus keinerlei Komplikationen: gleiche Zahl in Spermatogonien und Prophasen I ent-

spricht durchaus der Regel. Anders in der typischen Reihe. Wenn man nicht die Annahme machen will, daß bei *Bythinia* bereits eine Differenzierung in zweierlei Spermatogonien Platz gegriffen hat, von denen nur die atypische beobachtet wurde, nicht dagegen die typische mit doppelter Chromosomenzahl (etwa 50), eine Annahme, die in den einschlägigen Untersuchungen keine Stütze findet, so ergeben sich bezüglich der synaptischen Stadien Schwierigkeiten. Wir sahen das letztere in der typischen Reihe, in durchaus normaler Weise auftreten und das läßt sich nicht anders als im Sinne einer Pseudoreduktion deuten. Dann aber muß nach der letzten Spermatogonienteilung eine Verdoppelung der Chromosomen eingetreten sein. Solche Chromosomenverdoppelungen und -bindungen sind ja neuerdings bei Hymenopteren von Armbruster (13) und Nachtsheim (13) beschrieben worden. Diese letztere Annahme halte ich für die wahrscheinlichste, denn auch der weiter unten zu besprechende theoretisch letzte Ausweg scheint mir praktisch nicht gangbar.

Was die Verhältnisse bei der Wachsmotte im Vergleich mit denen bei *Pygaera* betrifft, so haben wir bereits gesehen, daß nahezu völlige Übereinstimmung herrscht. Im Gegensatze zu Federley (13) möchte ich aber betonen, daß ich keinerlei Anhaltspunkte dafür gefunden habe, daß die Chromosomenkonjugation erst kurz vor der Diakinese vor sich geht. Es liegt gar kein Grund vor, daran zu zweifeln, daß im Pachynema bereits die Konjugation vollzogen ist und ich glaube nicht, daß bei *Pygaera* die Verhältnisse anders liegen.

B. Über die mutmaßliche Bedeutung der atypischen Spermien.

Es ist begreiflich, daß keiner der Untersucher der atypischen Spermien an der Frage nach ihren Bedeutungen vorbeigehen konnte. Die Diskussion über die Vorstellungen der älteren Untersucher möge bei Meves (02) nachgelesen werden. — Nach den Beobachtungen von Popoff (07) an *Paludina*, der feststellte, daß die oligopyrenen Spermien wesentlich kurzlebiger sind, als die eupyrenen, könnte man vielleicht annehmen, daß erstere bei dem Zerfall, den sie im Receptaculum erleiden, den andern zur Nahrung dienen. Verweilen doch nach eingetretener Begattung die Spermien Wochen und Monate im Receptaculum. Popoff selbst hat sich hierüber nicht ausgesprochen, da ihm nicht verborgen bleiben konnte, daß bei allen übrigen Arten mit Spermatozoen-Dimorphismus jene Erklärung hinfällig werden müßte. Die Eiablage unmittelbar nach der Begattung würde eine solche Einrichtung überflüssig machen. Goldschmidt (11) bringt die oligopyrenen Spermien mit der Geschlechtsbestimmung in Zusammenhang: Die Eier bedürfen stets der Befruchtung

mit eupyrenen Spermien. Dringt aber außerdem ein oligopyrenes Spermium ins Ei, so erhält es ein Plus an trophochromatischer Substanz (Mitochondrien). Dies aber führt in Analogie mit dem Mechanismus der Geschlechtschromosomen — die GOLDSCHMIDT damals wenigstens als »Trophochromosomen« deutete — zur Bildung von Weibchen. — Einen Schritt weiter ging R. HERTWIG (12), indem er sich vorstellte, daß Befruchtung mit nur einem oligo- oder apyrenen Spermium ein Grenzfall der Parthenogenese bei Hymenopteren sei und daher Männchen bedingen müsse. Befruchtungen mit einem eupyrenen Spermium müsse Weibchen liefern. Diese Annahme ließ sich experimentell prüfen und zwar durch Kreuzung der *Pygaera*-Arten, was R. HERTWIG und unabhängig davon FEDERLEY (11, 13) getan haben. War die HERTWIGsche Formulierung zutreffend, so durften bei Kreuzungen die Männchen in F_1 ausschließlich mütterliche Charaktere tragen. Die Kreuzungen, die von FEDERLEY und R. HERTWIG ausgeführt wurden, lieferten aber in F_1 bei Männchen und Weibchen intermediäre Charaktere. Auf Grund dieses Ergebnisses hat R. HERTWIG seine Annahme fallen lassen. Aber auch cytologisch muß sich diese Annahme prüfen lassen. Liefert die Befruchtung mit oligopyrenen Spermien Männchen mit haploider Chromosomenzahl, so muß in der Spermatogenese, wie bei den Hymenopteren, die Reduktionsteilung ausfallen. Nun hat aber die Untersuchung der Spermatogenese der Prosobranchier wie die von *Pygaera* und der Wachsmotte ergeben, daß in der typischen Spermatogenese zwei normale Reifeteilungen erfolgen. Allerdings darf hier nicht übersehen werden, daß obige Schlußfolgerung nur unter der Voraussetzung zutreffend ist, daß das Ei nach Vollendung beider Reifeteilungen befruchtet wird, oder zum mindesten der Ablauf der Reifeteilungen durch das Eindringen nur eines atypischen Spermiums nicht in der Weise abgeändert werden kann, daß nunmehr nur die Äquationsteilung durchgeführt wird. Möglichkeiten hierzu sind nicht von der Hand zu weisen. Die Eier der Schmetterlinge (vgl. HENKING [90], HENNEGUY [04]) werden auf dem Stadium der ersten Richtungsspindel befruchtet. Ebenso die Mehrzahl der Mollusken (vgl. hierzu u. a. BONNEVIE [06], POPOFF [07], LAMS [11b], BALTZER [13]). Wenn also das Ei bei Befruchtung mit einem oligo- oder apyrenen Spermium die Fähigkeit besitzt, nur eine oder zwei Äquationsteilungen zu vollführen, dann könnte man der Spermatogenese davon nichts anmerken, denn es liegt auf der Hand, daß die Voraussetzungen für Pseudoreduktion und Reduktionsteilung durch das Vorhandensein der beiden väterlichen und mütterlichen Chromosomengarnituren gegeben sind. Vielleicht weisen die oben diskutierten Chromosomenverhältnisse bei *Bythinia* in diese Richtung.

Immerhin stehen dieser Auffassung die schwerwiegenden Resultate der *Pygaera*-Kreuzungen entgegen.

Alle weiteren Erklärungsversuche werden nun die Tatsache berücksichtigen müssen, daß bei dem einzigen bekannten hermaphroditen Prosobranchier Spermatozoen-Dimorphismus nicht vorkommt, ein Umstand, der zweifellos stark für einen Zusammenhang mit der Geschlechtsbestimmung spricht. Es ergeben sich auch Möglichkeiten, die atypischen Spermien mit der Keimbahnbestimmung in Zusammenhang zu bringen. Ich wage indessen angesichts der neuerlichen Komplikation, die die Untersuchung von *Valvata* mit sich gebracht hat, weitere Möglichkeiten nicht zu erörtern, in der Hoffnung, daß es demnächst gelingen wird, die Frage wenigstens für *Bythinia* aus dem Stadium rein spekulativer Betrachtung in das exakter Beobachtung überzuführen.

Literaturverzeichnis.

(Die Zusammenstellung der älteren Literatur findet sich bei Kuschakewitsch [13] und Meves [02].)

Armbruster, L. 1913. Chromosomenverhältnisse bei der Spermatogenese solitärer Apiden (Osmia cornuta Latr.) usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. XI.

v. Baehr, W. B. 1909. Die Ovogenese bei einigen viviparen Aphiden und die Spermatogenese von Aphis saliceti usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

Baltzer, F. 1913. Über die Chromosomen der Tachea (Helix) hortensis, Tachea austriaca und der sogenannten einseitigen Bastarde T. hortensis T. austriaca. Arch. f. Zellforsch. Bd. XI.

Bonnevie, K. 1906. Untersuchungen über Keimzellen. Beobachtungen an den Keimzellen von Enteroxenos östergreni. Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLI.

Boveri, Th. 1911. Über das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Hermaphroditismus. Beobachtungen an Rhabditis nigrovenosa. Sitzber. phys. med. Ges. Würzburg.

Buchner, P. 1913. Die trophochromatischen Karyomeriten des Insekteneies und die Chromidienlehre. Biologisches Centralblatt. Bd. XXXIII.

Demoll, R. 1912. Die Spermatogenese von Helix pomatia L. Zoolog. Jahrbücher. Suppl. 15. (Spengels Festschr.). Bd. II.

Doncaster, L. 1911. Some stages in the spermatogenesis of Abraxas grossulariata and its variety lacticolor. Journ. of Genetics. Vol. I.

—— 1912. Note on the chromosomes in Oogenesis and Spermatogenesis of the white Butterfly, Pieris brassicae. Proc. Cambridge Soc. Vol. XVI.

Federley, Harry. 1911. Vererbungsstudien an der Lepidopterengattung Pygaera. Arch. f. Rassen- und Gesellsch.-Biol. Bd. VIII.

—— 1913. Das Verhalten der Chromosomen bei der Spermatogenese der Schmetterlinge Pygaera anachoreta, curtula und pigra sowie einiger ihrer Bastarde. Zeitschr. d. induktiven Abstamm.- u. Vererb.-Lehre. Bd. IX.

GOLDSCHMIDT, R. 1911. Kleine Beobachtungen und Ideen zur Zellenlehre. I. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI.

—— 1913. Cytologische Untersuchungen über Vererbung und Bestimmung des Geschlechtes. Berlin, Gebr. Bornträger.

GRÉGOIRE, V. 1910. Les cinèses de maturation dans les deux règnes II. La Cellule. T. XXVI.

HENKING, H. 1890. Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. I. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XLIX.

HENNEGUY, R. 1904. Les Insectes.

HERTWIG, R. 1912. Über den derzeitigen Stand des Sexualitätsproblems nebst eignen Untersuchungen. Biol. Centralbl. Bd. XXXII.

KUSCHAKEWITSCH, S. 1913. Studien über den Dimorphismus der männlichen Geschlechtselemente bei den Prosobranchia. Arch. f. Zellforsch. Bd. X.

LAMS, H. 1910a. Recherches concernant le dimorphisme des éléments séminaux chez le Murex. Ann. d. la Soc. d. Méd. d. Gand. T. LXXXIX.

—— 1910b. Recherches sur l'œuf d'Arion Empiricorum (Fér.). Mémoires de l'Académie royale de Belgique. T. II. 2d Sér.

MAZIARSKI, ST. 1913. Sur la persistance de résidus fusoriaux pendant les nombreuses générations cellulaires au cours de l'ovogénèse de Vespa vulgaris. L. Arch. f. Zellforsch. Bd. X.

MEVES, FR. 1900. Über den von v. LA VALETTE ST. GEORGE entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LVI.

—— 1902. Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entwicklung nach Beobachtungen an Paludina und Pygaera. Ebenda. Bd. LXI.

MORGAN, TH. H. 1909. A biological and cytological study of sex determination in Phylloxerans and Aphids. Journal of Exper. Zool. Vol. VII.

NACHTSHEIM, H. 1913. Cytologische Studien über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene (Apis mellifica L.). Arch. f. Zellforsch. Bd. XI.

POPOFF, M. 1907. Eibildung der Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix etc. Arch. f. mikr. Anatomie. Bd. LXX.

RETZIUS, G. 1906. Die Spermien der Gastropoden. Biol. Untersuch. N. F. Bd. XIII.

SALKIND, J. 1912. Zur Vereinfachung der histologischen Technik. 4. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIX.

SCHLEIP, W. 1911. Das Verhalten des Chromatins bei Angiostomum (Rhabdonema) nigrovenosum usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII.

SEILER, J. 1913. Das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Lepidopteren. Zool. Anz. Bd. XLI.

STEPHAN, O. 1903. Sur les Spermies oligopyrènes et apyrènes de quelques Prosobranches. C. R. Soc. Biol. Paris. T. LV.

—— 1913a. Le développement des spermies apyrènes de Murex brandaris. Ebenda. T. LV.

—— 1903b. Le développement des spermies apyrènes de Cerithium vulgatum et de Nassa mutabilis. Bibliogr. Anat. T. XII.

—— 1903c. Le développement des spermies eupyrènes de Cerithium vulgatum. C. R. Ass. Anat. 5me sess.

WILSON, E. B. 1913. A chromatoid body simulating an accessory chromosome in Pentatoma. Biol. Bull. Vol. XXIV.

Tafelerklärung.

Sämtliche Abbildungen (ausschl. Fig. 88 und 89) sind mit Zeiss Hom.-Imm. 1,5 mm und Comp.-Oc. 12 mit Zeichenapparat auf Objekttischhöhe gezeichnet. Fig. 88 und 89 — unter im übrigen gleichen Bedingungen — mit Zeiss Hom.-Imm. 2 mm, Comp.-Oc. 4.

Um einen besseren Überblick zu bieten, wurden meist mehrere nebeneinander liegende und auf annähernd gleichem Stadium befindliche Zellen abgebildet.

Tafel XLIII.

Bythinia tentaculata L.

Fig. 1—25 typische Reihe, Fig. 26—44 atypische Reihe.

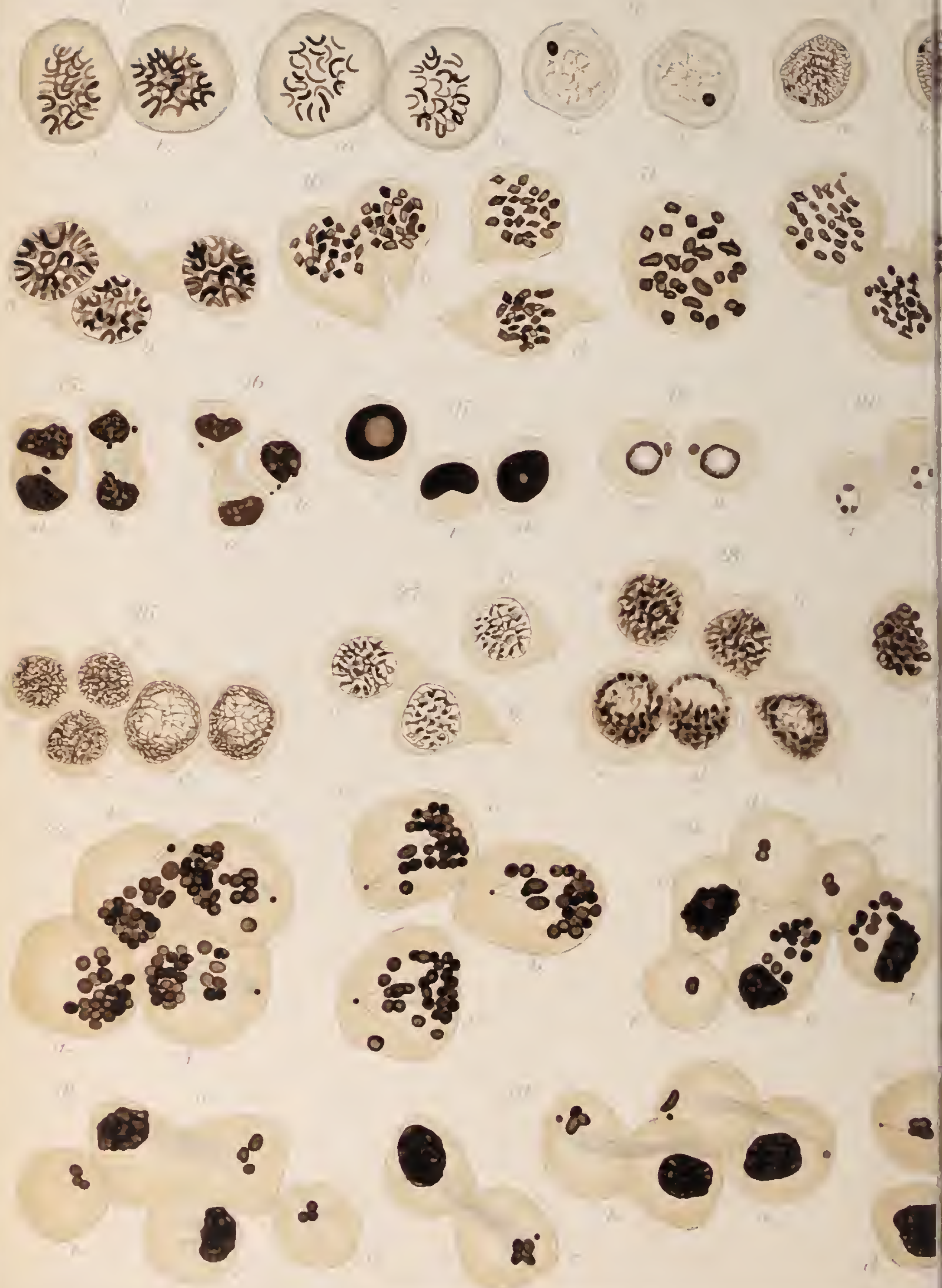
Wo nicht anders angegeben, handelt es sich um mit Petrunkewitsch fixierte und mit E.H. gefärbte Schnitte von 7,5 μ Dicke.

Typische Reihe.

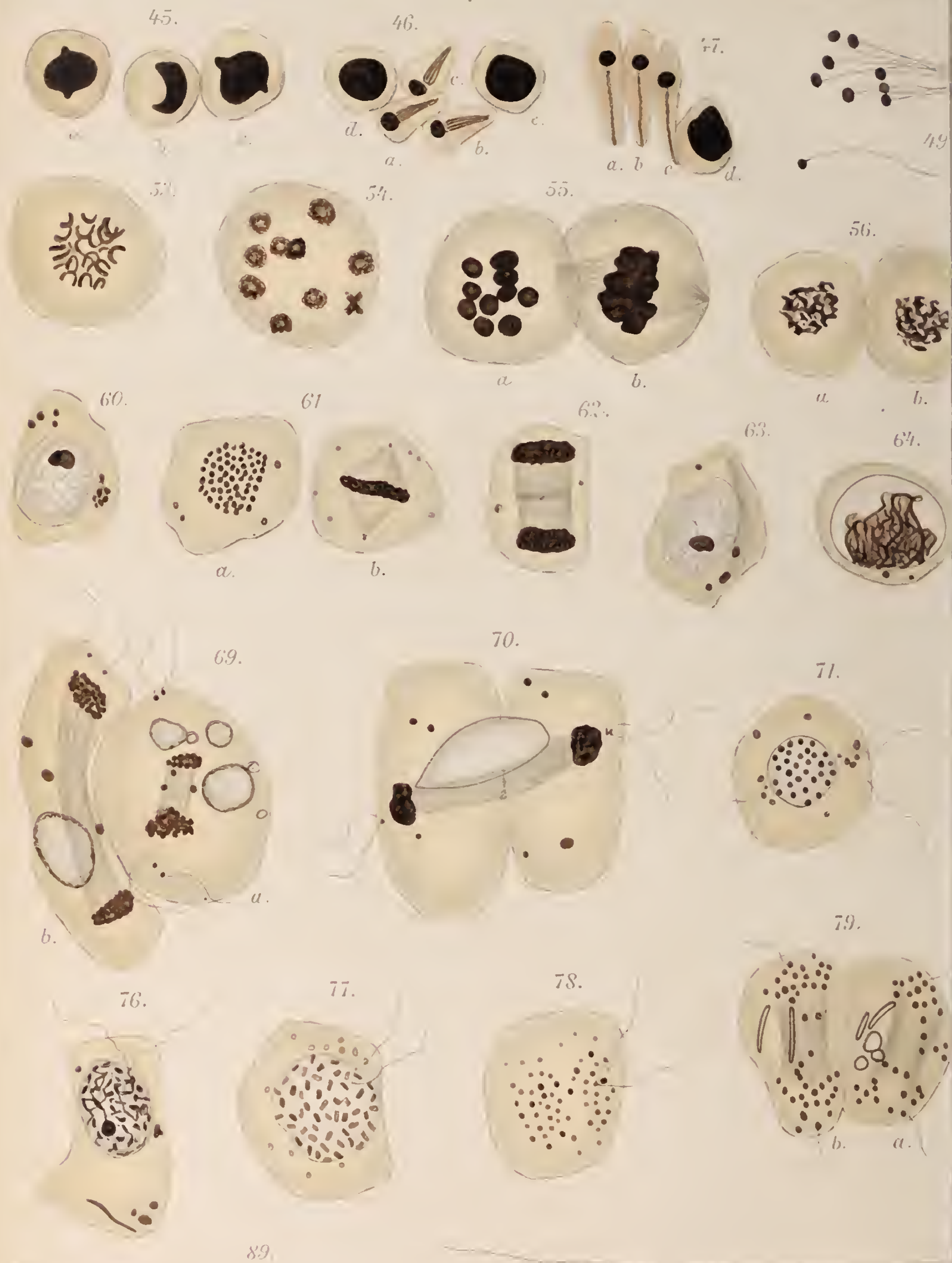
Fig. 1. Spermatogonienmitosen.
Fig. 2. Desgleichen. (Fixierung nach Benda.)
Fig. 3. Junge Spermatocyten.
Fig. 4. Desgl. vorgeschritten.
Fig. 5. Leptonema.
Fig. 6. Synapsis.
Fig. 7. Pachynema.
Fig. 8. Diplotänes Stadium.
Fig. 9. Desgl. Übergang zur Prophase I.
Fig. 10. Prophase I.
Fig. 11. Desgl. (Ausstrichpräparat nach Salkind gefärbt.)
Fig. 12. Desgl. und Metaphase I.
Fig. 13. Meta- und Anaphasen I.
Fig. 14. Metaphase II.
Fig. 15. Anaphasen II.
Fig. 16*a*. Telophasen II.
Fig. 16*b*. Junge Spermatide.
Fig. 17. Spermatiden.
Fig. 18—23. Spermiogenese. (Fig. 18 u. 20 Fixierung nach Benda.)
Fig. 24. Eupyrenes Spermium.
Fig. 25. Desgl. Kopf gestreckt (Hodenausstrich, Petrunkewitsch, Safranin-Lichtgrün).

Atypische Reihe.

Fig. 26. Junge Spermatocyten.
Fig. 27. Desgl. Herausarbeitung der Prophasenelemente.
Fig. 28*a* u. *b*. Desgl. vorgeschritten, 28*c*—*e* Andeutung von Bukettstadien.
Fig. 29*a* u. *b*. Andeutung von Bukettstadien, 29*c* u. *d* Prophasen I.
Fig. 30. Beginn der Chromosomenverklumpung.
Fig. 31. Polare Anordnung der Chromosomen.






45.
a.
b.
c.
46.
d.
c.
a.
b.
c.
47.
a.
b
c
d.
49
53.
54.
55.
a
b.
56.
a.
b.
60.
61
a.
b.
62.
63.
64.
69.
a.
b.
70.
71.
76.
77.
78.
79.
b.
a.
89.

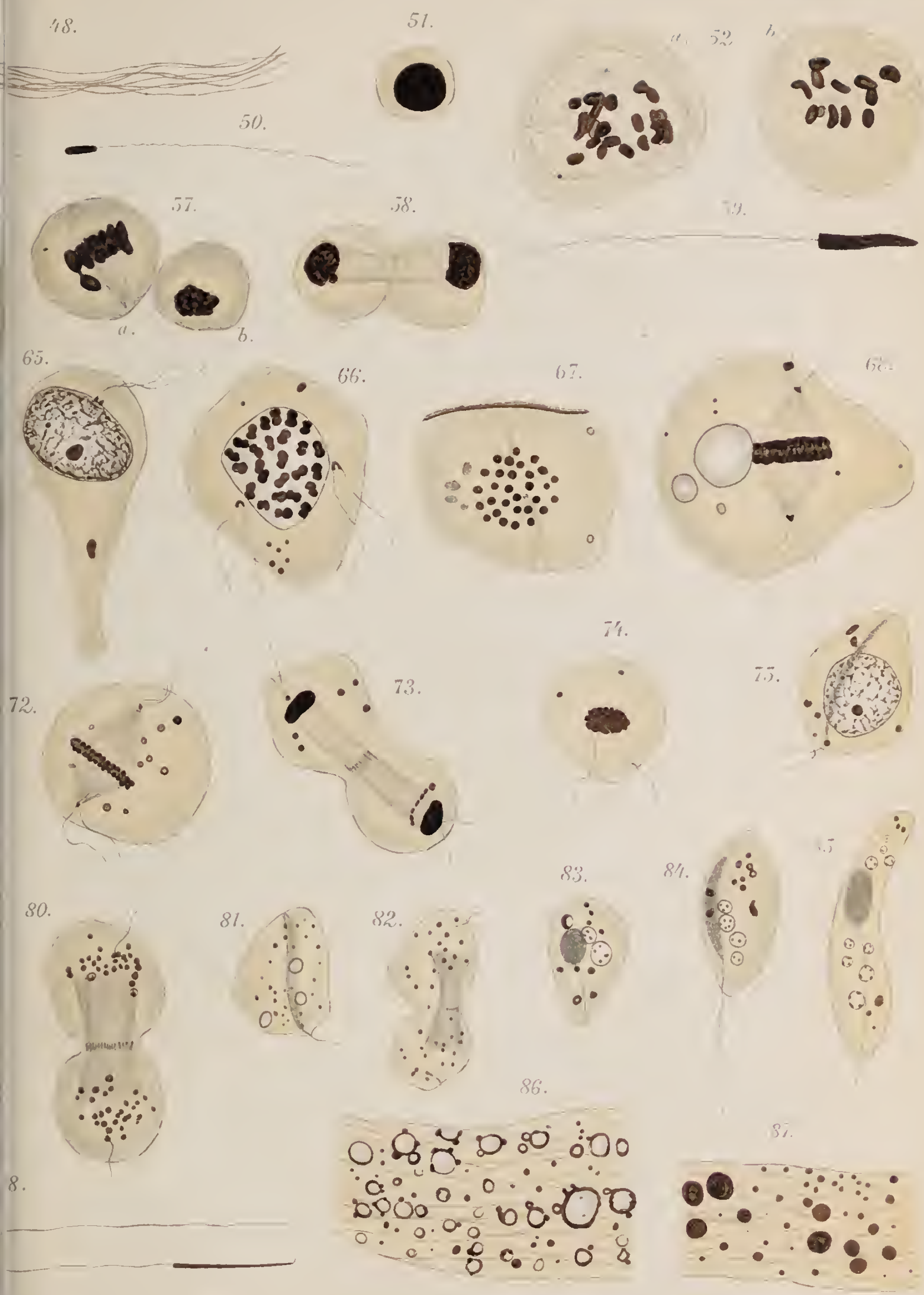

48.
51.
a.
52
b.
50.
57.
58.
a.
b.
65.
66.
67.
74.
72.
73.
75.
83.
84.
80.
81.
82.
86.

Fig. 32. Desgl. vorgeschritten, Beginn der ersten Reifeteilung.

Fig. 33. Desgl.

Fig. 34. Desgl. vorgeschritten, bei 34*d*, *e* u. *f* Spermatocyten II. Ordn., bei 34*c* ein hyperpyrener Restkörper.

Fig. 35. Beginn der Metaphase I, bei 35*c* eine Spermatocyte II. Ordnung.

Fig. 36. Metaphase I.

Fig. 37*a*. Metaphase I, bei 37*b* hyperpyrener Restkörper, bei 37*c* u. *d* Metaphasen II.

Fig. 38*a*. Telophase I, bei 38*b* u. *d* Spermatocyten II. Ordnung, bei 38*c* hyperpyrener Restkörper.

Fig. 39. Telophasen I.

Fig. 40*a*—*c*. Metaphasen II, bei 40*d* ein hyperpyrener Restkörper.

Fig. 41. Spermatiden.

Fig. 42—44. Spermiogenese und hyperpyrene Restkörper.

Tafel XLIV.

Fig. 45—52. *Bythinia tentaculata* L. Atypische Reihe (Fortsetzg.).

Fig. 53—59. *Valvata piscinalis* L.

Fig. 60—89. *Galleria melonella* (Fabr.) (Wachsmotte).

Fig. 60—74 und 89 typische Reihe.

Fig. 75—88 atypische Reihe.

Bei *Bythinia* und *Valvata* alle Figuren — wenn nichts Gegenteiliges bemerkt — nach mit Petrunkewitsch fixierten, mit E.H. gefärbten 7,5 μ dicken Schnitten, bei *Galleria* — wenn nicht anders bemerkt — nach mit Flemming fixierten, sonst gleich behandelten Schnitten.

Bythinia, atypische Reihe (Fortsetzg.).

Fig. 45. Anläufe der hyperpyrenen Restkörper zur Spermienbildung.

Fig. 46 u. 47. Hyperpyrene Restkörper und Spermiogenese.

Fig. 48. Bündel oligopyrener Spermien.

Fig. 49. Einzelnes oligopyrenes Spermium vom Beginn des Vas deferens.

Fig. 50. Fertiges oligopyrenes Spermium (Hodenausstrich, Petrunkewitsch, Safranin-Lichtgrün).

Fig. 51. Hyperpyrener Restkörper vom Beginn des Vas deferens.

Fig. 52*a* u. *b*. Schnitthälften einer Zelle unbekannter Art in Mitose, vermutlich pathologische atypische Spermatocyte.

Valvata piscinalis L.

Fig. 53. Spermatogonienmitose (Zwitterdrüsenausstrich, Petrunkewitsch, E.H.)

Fig. 54. Prophase I, Metaphase I.

Fig. 55. a) in Polansicht, b) frühe Anaphase I in Seitenansicht.

Fig. 56. Interkinese.

Fig. 57. a) Metaphase der zweiten Reifeteilung, b) Spermatide.

Fig. 58. Telophase II.

Fig. 59. Fertiges Spermium.

Galleria melonella Fabr.

Typische Reihe.

Fig. 60. Ruhende Spermatogonie.

Fig. 61*a*. Spermatogonien-Äquatorialplatte in Polansicht, *b* desgl. in Seitenansicht.

Fig. 62. Spermatogonientelophase (Hermann, E.H.).

Fig. 63. Junge Spermatocyte.

Fig. 64. Bukettstadium (Hermann, E.H.).

Fig. 65. Spermatocyte gegen Ende des Wachstums.

Fig. 66. Prophase I.

Fig. 67. Metaphase I.

Fig. 68. Frühe Anaphase I.

Fig. 69*a*. Desgl. vorgerückt.

Fig. 69*b*. Späte Anaphase I.

Fig. 70. Telophase I.

Fig. 71. Prophase II.

Fig. 72. Metaphase II.

Fig. 73. Telophase II.

Fig. 74. Spermatide (Hermann, E.H.).

Atypische Reihe.

Fig. 75. Junge Spermatocyte.

Fig. 76. Spermatocyte, Herausdifferenzierung der Prophasenelemente.

Fig. 77. Prophase I.

Fig. 78. Frühe Anaphase I.

Fig. 79. Anaphasen I, vorgerückt.

Fig. 80. Späte Anaphase I.

Fig. 81. Spermatocyte II. Ordnung.

Fig. 82. Zweite Reifeteilung.

Fig. 83. Junge Spermatide.

Fig. 84. Spermiogenese, Aufquellen der Chromosomen.

Fig. 85. Desgl. vorgerücktes Stadium.

Fig. 86. Desgl. Karyomeritenbildung der Chromosomenbläschen, angeschnittenes Spermienbündel (Hermann, E.H.).

Fig. 87. Pyknotische Degeneration der Chromosomenbläschen, angeschnittenes Spermienbündel (Hermann, E.H.).

Fig. 88. Fertiges apyrenes Spermium (Hodenausstrich, Sublimateisessig, Ehrlich-Biondi-Heidenhain).

Fig. 89. Fertiges eupyrenes Spermium (Behandlung wie bei Fig. 88).

Protoplasmastruktur.

Sammelreferat.

Von

H. Lundegårdh
(Stockholm).

Über die Beschaffenheit und das Aussehen der gröberen Strukturen und Einschlüsse im Protoplasma bestehen noch sehr lebhafte Kontroversen sowohl auf zoologischem wie auf botanischem Gebiet. In der Mitochondrienlehre scheint doch eine Lichtung in der Ferne aufzutauchen, indem man der chemischen Natur der Fadenkörner etwas Aufmerksamkeit zu widmen beginnt. Es hat sich herausgestellt, daß mehrere merkwürdig aussehende Protoplasmaeinschlüsse Stoffwechselprodukte sind, keineswegs autonome Organe oder ausgewanderte Kernsubstanz [v. Kemnitz[1]), Jörgensen[2])], wie man früher glaubte. Ferner wurden Mitochondrien in andern Fällen mit Fettkörpern von Lezithinnatur identifiziert [Regaud, Policard u. a.[3])]. Diese letztere Auffassung ist von besonderem Interesse, weil man sich möglicherweise auf dem Wege zu einem kausalen Verständnis gewisser Plasmastrukturen befindet.

Ich erinnere hier zuerst an die Untersuchungen Hammars[4]). Er bewahrte Blut außerhalb des Körpers auf und fand, daß in den Leukocyten durch eine Entmischung Lipoidkörner entstanden. Diese sogenannten »Purpurlipoide« zeichnen sich durch eine große Empfindlichkeit für Reagentien aus. Es handelt sich in diesem Falle um eine Degenerationserscheinung. Doch unterliegt es keinem Zweifel, daß auch im normalen Leben der Zelle derartige Entmischungen stattfinden, obwohl dieses Gebiet der Cellularphysiologie in auffallendem Grade vernachlässigt worden ist.

---

[1]) Arch. f. Zellforsch. Bd. VII. 1912. S. 463.

[2]) Arch. f. Zellforsch. Bd. X. H. 1 und 2.

[3]) Vgl. Fauré-Fremiet, Arch. d'anat. microsc. T. XI. 1909—1910. p. 529ff.

[4]) Festschrift f. Retzius. Stockholm 1912. Nr. 3.

Auf botanischem Gebiet wurde neuerdings von BORESCH (1) eine Untersuchung über Filarstrukturen im Protoplasma einiger Moose, *Fontinalis antipyretica*, *Funaria hygrometrica* u. a. publiziert. In den Zellen kommen gleichförmig homogen erscheinende, oder mit kleinen, stark lichtbrechenden Tröpfchen besetzte Fäden vor. Sie ändern unaufhörlich ihre Form, Lage und Sichtbarkeit. Merkwürdig ist die große Empfindlichkeit dieser Filarbildungen gegen verschiedene in die lebende Zelle diosmierende chemische Körper. Sie zerfallen dabei, nachdem sie charakteristische Zwischenstufen (myelinartige Bildungen, Fadenstücke, Schleifen, Ringe usw.) durchlaufen haben, in feine Tröpfchen. Wäscht man den Fremdstoff aus, so bilden sich die Fäden durch Zusammengehen der Tröpfchen wieder zurück. Es handelt sich hier folglich um einen in der lebenden, gesunden Zelle stattfindenden völlig reversiblen Prozeß. Ähnliche Metamorphosen der Filarstrukturen treten ein, wenn man längere Zeit in Dunkel gehaltene Blätter in das Licht einer Auerlampe oder in diffuses Tageslicht bringt. Besonders darauf gerichtete Untersuchungen ergaben, daß die Filarbildungen nichts Wesentliches mit den Chloroplastenbewegungen zu tun haben.

Was die chemische Natur der von BORESCH untersuchten Strukturen anbetrifft, so bestehen sie zum größten Teil aus Fett, Lipoiden, und dies bringt die obigen Angaben über die Mitochondrien in Erinnerung. Es wäre möglich, daß die Mitochondrien zum Teil Emulgierungsphänomene in der lebenden Zelle darstellten. Tatsächlich erinnert ihr Aussehen manchmal lebhaft an die sogenannten Myelinbildungen. Die Myelinbildungen entstehen auf physikalischem Wege, wenn man Ölsäure in Kontakt mit einer alkalischen Lösung bringt. LÖWSCHIN (8) hat die Bildung von Myelinformen aus Lezithin verfolgt. Es bildeten sich dabei Körner, stäbchen-, hantel-, rosenkranzförmige Gebilde usw., kurz alle diejenigen Formen, die man als für die Chondriosomen charakteristisch angenommen hat. Auch die Struktur der Myelinformen ist ganz derjenigen der Chondriosomen ähnlich. Man beobachtet einerseits homogene Formen, anderseits Gebilde von feinerer Struktur. Im letzteren Fall unterscheidet man eine äußere Membran und eine innere Substanz, die manchmal aus einigen Teilkörnern oder Kammern zusammengesetzt ist. Bemerkenswert ist auch das Verhalten dieser Lezithinkörper Reagentien gegenüber. Sie werden durch Formol, Osmiumsäure und Chromsäure fixiert, doch sind sie sehr empfindlich und zerfallen unter der Einwirkung von Essigsäure.

Es besteht folglich eine mehrfache Übereinstimmung zwischen den in den Zellen beobachteten Chondriosomen und den künstlich erzeugten

Myelinformen und man kann nicht umhin, zu behaupten, daß Emulgierungsphänomene eine bedeutende Rolle in dem Leben der Zellen spielen[1]). Wie man sich nun diese Verhältnisse im einzelnen vorzustellen hat, bleibt allerdings etwas unsicher, und es liegt hier ein reiches Feld für Beobachtungen an lebendem Material vor.

Fette verschiedener Art spielen eine große Rolle im Stoffwechsel. Die Kohlehydratkomponenten werden namentlich bei den Tieren, aber auch vielfach bei den Pflanzen (nach Nägeli sind neun Zehntel aller Samen der Phanerogamen fetthaltig) in Fettarten umgewandelt und in dieser Form aufgespeichert. Die Lezithine enthalten außerdem den für das Leben unentbehrlichen Phosphor, als Phosphorsäurerest gebunden, und man darf daher annehmen, daß diese Körper, die in allen lebenden Zellen in größerer oder geringerer Quantität vorkommen, in mannigfaltiger Weise mit den Lebensprozessen im Protoplasma und in dem Kern verkettet sind. Die Lezithine pflegen auch Bindung mit Eiweißstoffen einzugehen, sogenannte Lezithinalbumine.

Manchmal dürften die Lezithine in feiner Emulsion in der Zelle vorkommen, ja, diese Emulsion könnte wohl unter Umständen ultramikroskopisch sein, d. h. die Fette kämen in kolloidaler Lösung vor (einige Forscher, wie Overton, Höber, stellen sich die Hautschicht des Plasmas in dieser Weise vor). Gehen die unsichtbaren Fettröpfchen in einer derartigen Lösung zusammen, so daß größere sichtbare Tröpfchen entstehen, so sprechen wir von einer Entmischung. Kommt nun in der Zelle zugleich ein oberflächenaktiver Stoff vor, so verraten die Fettropfen allerlei Bewegungen und Gestaltveränderungen; wir erhalten dann Myelinbildungen und sprechen von einer Emulgierung. Die Emulgierung ist eigentlich eine Reversion der Entmischung, denn sie führt schließlich wieder zu dem Stadium der feinen Emulsion. Diese beiden Vorgänge Emulgierung und Entmischung dürften in der lebenden Zelle sehr häufig im Zusammenhang mit physiologischen Prozessen eingeleitet werden und spielen demnach eine große Rolle für das Strukturbild des Protoplasmas.

Ob nun die Grundmasse des Protoplasmas eine Emulsion darstelle oder nicht, darüber bestehen bekanntlich Kontroversen. Bütschli behauptet, daß die Wabenstruktur allgemein vorkommt. Gegen diese Auffassung Bütschlis haben sich mehrere Forscher, auf botanischer Seite A. Fischer und Degen gewendet. Sie haben gezeigt, daß die Wabenstruktur manchmal oder in der Regel ein Fixierungs- bzw. ein Degenerationsprodukt darstellt. Neuerdings hat auch Lepeschkin (4) durch

[1]) Vgl. auch Albrecht, Verh. d. Deutsch. Pathol. Gesellsch. Jena 1904. S. 95.

einen indirekten Beweis geltend gemacht, daß die Grundmasse des Embryonalplasmas keine andre Struktur als die einer Emulsion besitzen kann.

Schon beim Betrachten von gewöhnlichen Seifenschäumen wird man überzeugt davon, daß sie nicht den für Flüssigkeiten geltenden Gesetzen folgen. Lepeschkin hat gezeigt, daß auch Schäume, die aus zwei Flüssigkeiten bestehen, beispielsweise Öl und Pottaschelösung sich wie feste Körper verhalten, weil die innere Reibung sehr groß ist. Es zeigte sich, daß aus einem derartigen Schaum herausgeschnittene Stücke unbegrenzte Zeit ihre scharfkantige Form beibehielten. Sobald dagegen die Wände der kleinen Waben bersten und der Schaum in eine Emulsion verwandelt wird, vermindert sich die innere Reibung beträchtlich und die Oberflächenspannung kann sich wieder geltend machen. Lepeschkin zieht aus diesen physikalischen Untersuchungen den Schluß, daß das flüssige, strömende Plasma nur eine Emulsion sein kann und daß Schaum- bzw. Wabenstruktur nur dann auftritt, wenn, wie in der Außenschicht der Infusorien, dem Ectoplasma der Amöben, festere Konsistenz für die Aktionen der Zelle erforderlich ist.

Daß das tätige, embryonale Plasma flüssig ist, ersieht man namentlich an den Pflanzenzellen, wo es fast immer in mehr oder weniger lebhafter Strömung sich befindet. Bekanntlich zieht sich auch der Protoplast bei Plasmolyse schließlich zu einer Kugel zusammen, und die Untersuchungen Bertholds und Rhumblers laufen darauf hinaus, zu zeigen, daß das Protoplasma den Gesetzen für Flüssigkeiten gehorcht. Selbstverständlich finden, namentlich in der Ontogenie, bedeutende Modifikationen der inneren Beweglichkeit statt. Bekannt ist ja das harte Plasma der ruhenden Rhizomen und Endosperme, und in physiologischer Hinsicht interessant sind die Ergebnisse Szücs (17). Er fand nämlich, daß das Protoplasma der *Spirogyra*-Zellen unter der Einwirkung von Aluminiumsalzen erstarrt. Diese Gelatinierung ist aber reversibel und die Beweglichkeit kehrt beim Auswaschen der Aluminiumionen zurück. Selbsttätige Veränderungen der Konsistenz der feineren Struktur finden wohl bei der Kernteilung statt. Ich erinnere namentlich an die sehr merkwürdigen Centrosomen der Diatomeen, die in der Ruhe rund und klein sind, bei der Teilung allmählich in einen längsgestreiften Cylinder verwandelt werden. Bei derartigen Gestaltveränderungen wird wohl auch die Konsistenz fester. Auch die Karyosomen sind in der Ruhe zumeist rund, werden aber in der Prophase zu länglichen Bildungen, den Spiremfäden, umgestaltet, auch wenn dabei, wie bei *Echinus*, *Cucurbita*, keine Zunahme der absoluten Karyotinmenge stattfindet.

Die winzigen Fäden, Tröpfchen u. dgl., die in der hyalinen Grundsubstanz des flüssigen Plasmas aufgeschwemmt sind und so die »Plasmaemulsion« darstellen, sind wohl teils weniger flüssig, ja mitunter kommen wohl feste Körper, Kriställchen usw. vor, die als »Mikrosomen« Transportmaterial für verschiedene Prozesse in der Zelle darstellen. Übrigens ist dieses Wort »Mikrosomen« ein unbestimmter Sammelbegriff für alle die kleinen suspendierten Partikeln, seien sie fest oder flüssig. Daß unter ihnen transitorische Produkte vorkommen, geht aus den Beschreibungen STRASBURGERS, ZACHARIAS' u. a. über das Membranwachstum bei Algen und Haaren hervor. Man hat beobachtet, daß z. B. an den ringförmigen Ort an der Zellmembran von *Spirogyra*, wo die Anlage der neuen Querwand sich erhebt, Plasmaströme mit zahlreichen »Mikrosomen« verlaufen. Diese »Mikrosomen« werden in Zellwandmaterial umgewandelt.

Ob es eine scharfe Grenze zwischen den Elementen der feinen Plasmaemulsion, des »Körnerplasmas«, und den gröberen Filar- und Granulastrukturen, Mitochondrien usw. gibt, ist recht zweifelhaft. Jedenfalls dürften dieselben physikalischen Gesetze für die Beweglichkeit und Veränderlichkeit beider gelten. Die kleinen Tröpfchen bewegen sich wohl, sofern nicht Strömungen im Plasma vorliegen, auf Grund der BROWNschen Molekularbewegung. Tropfen können, wie LÖWSCHIN an den künstlichen Mitochondrien beobachtet hat (8, S. 204), unter dem Einfluß von Strömungen im Medium zu langen Fäden. Spermatozoidformen und dgl. werden. Die schlängelnde und pendelnde Bewegung der Filarstrukturen, die man bei Algen (BORESCH, vgl. oben; LAUTERBORN bei Diatomeen; BERTHOLD bei *Bryopsis*, *Vaucheria* u. a.) und Knorpelzellen (SCHLEICHER, FLEMMING) beobachtet hat, wird wohl auf Fluktuationen ähnlicher Art in Verbindung mit unaufhörlichen Veränderungen der Oberflächenspannung und wohl auch der Konsistenz zurückzuführen sein. Da das Plasma zum größten Teil aus kolloidalen Substanzen aufgebaut ist, werden diese Strukturverhältnisse sehr empfindlich gegen kolloidchemische Eingriffe, wie auch aus den zitierten Untersuchungen BORESCHS hervorgeht. Man weiß ja auch, daß die Zellen der Meeresorganismen keine abnormen Salzmischungen vertragen. Die Struktur fällt in einem abnormen Medium zusammen, Cytolyse tritt ein und die Zelle stirbt schließlich.

Die Kolloide, wenn sie als Gele vorkommen, besitzen auch eine zwar unsichtbare Struktur, die man sich wie eine ultramikroskopische Wabenstruktur (nach NÄGELI »Mizellarstruktur«) vorstellen kann. Die Veränderungen dieser Struktur kann man nicht direkt beobachten, doch besitzen wir Mittel, dieselben auf indirektem Wege zu verfolgen. Die Plasmahaut dürfte eine derartige ultramikroskopische Wabenstruktur be-

sitzen und verändert man diese Struktur, so wird die Durchlässigkeit der Hautschicht für gelöste Stoffe, ihre Permeabilität verändert. Derartige Permeabilitätsveränderungen werden schon durch physikalische Beeinflussungen erziehlt. Bringt man eine Zelle in Kontakt mit einer Zuckerlösung, so wird dadurch die Durchlässigkeit der Hautschicht für Wasser erniedrigt[1]). Gewisse Verfasser, wie Ruhland (14), betrachten die Plasmahäute auch wie Ultrafilter, »Molekülsiebe«.

In der Literatur macht sich also, wie aus den vorstehenden Ausführungen hervorgeht, eine neue Richtung geltend, indem man die Protoplasmastruktur von physiologischen Gesichtspunkten aus studieren will[2]). Und damit ist meiner Meinung nach der richtige Weg betreten. Denn unser Ziel ist doch, die Zellstruktur kausal zu verstehen, und deshalb genügt es heute nicht, die Entstehung z. B. der Spindelfaser als eine formale Metamorphose von Filarstrukturen des Plasmas aufzufassen. Hinter jeder morphologischen Umwandlung steckt nämlich ein physiologischer Prozeß, dies ist ein Satz, den man auch in der modernen kausalen Pflanzenmorphologie (Goebel, Klebs u. a.) als Richtschnur verwendet, der aber noch mehr für die Zelle Gültigkeit hat: Denn die Zellstruktur ist ja flüssig, beweglich, während der fertige, mehrzellige Organismus ein festes Skelett besitzt.

Hinsichtlich der Veränderlichkeit der Struktur verhalten sich Kern und Cytoplasma recht verschieden, wenigstens dem Grade nach. Denn der Kern vermag zwar seine Totalkonsistenz zu verändern und bei der Teilung Chromosomen auszubilden, doch sind diese Metamorphosenmöglichkeiten im Vergleich mit dem Plasma dürftig. Das Plasma bildet die speziellen Zellstrukturen aus. Aber außerdem treiben hier eine Reihe von Mikrokräften ihr Spiel: Die Oberflächenspannung (bei Strömung; Bewegung der Fäden, Emulgierung), Chemotaxis (bei Stofftransporten, Chloroplastenbewegung, Kernpseudopodien), elektrische Kräfte (bei der Zellteilung), kolloidchemische Kräfte (bei Entmischung, Ausfällungen). Als Beispiel für besondere Zellstrukturen, die durch eine Art von Ausfällung, Entmischung oder dgl. entstehen, seien erwähnt die Centrosphären und Nebenkerne bei gewissen Tieren, die neben dem Kern im Zusammenhang mit der Kernteilung entstehen; ferner die »künstlichen Centrosomen«, die in kernlosen Eifragmenten durch chemisch-physikalische Einwirkung hervorgerufen werden; ähnliche Verdichtungen sind die

---

1) Lundegårdh, Kungl. Svenska Vet.-Akad. Handlingar. Bd. XLVII. Nr. 3. 1911. S. 102.

2) Einen neuen Beitrag zu den merkwürdigen physikalischen Analogien der Zellbildung und -differenzierung hat W. Magnus (10) geliefert.

sogenannten Ergastoplasmakörper in vielen Tiereiern. Eigentümliche cytoplasmatische Differenzierungen hat ORMAN (11) im Embryosack der Liliaceen gefunden und sie mit dem Namen Ergastoplasma belegt, mit der Reservation, daß »l'ergastoplasme« n'est à aucun moment une structure specialment active du protoplasme» (S. 431). In derArbeit von ORMAN findet man auch eine Zusammenstellung andrer Angaben über Filarstrukturen und dgl. im Plasma der Pflanzen. Die Literatur hierüber ist ziemlich ausgedehnt, doch liegen sehr wenige kritische Untersuchungen vor. Kausal weiß man sehr wenig über diese Strukturbildungen und über die Entstehung der oben erwähnten Entmischungsstrukturen überhaupt. Die »Entmischung« ist natürlich nur ein physiologisches Moment.

ORMAN hat in den Embryosäcken der Liliaceen mittels der »Mitochondrienmethoden« kleine Körper gefunden, die die Merkmale der Mitochondrien besitzen, sich jedoch niemals autonom teilen. ORMAN konnte nicht entscheiden, ob diese Körper Spezialformen des »Deutoplasmas« oder Embryonalstadien der Plastiden, oder endlich einfach Elemente des Körnerplasmas wären. Leider vertritt LEWITSKY (5, 6) nicht einen derartig liberalen Standpunkt. Er sucht in zwei neuen Mitteilungen die schon von ARTHUR MEYER (9), SCHMIDT (16) und mir (Arch. f. Zellforsch. Bd. VIII S. 640) bestrittene Hypothese von dem Entstehen der Chloroplasten aus Filarstrukturen (»Chondriosomen«) des Plasmas zu beweisen. Ähnliche Bemühungen machen PENSA (12) und GUILLERMOND (9), von welch letzterem eine wahre Flut von Chondriosomenabhandlungen emaniert. Da alle diese Arbeiten nichts wesentlich Neues hinsichtlich der Methodik und Beweisgründe bringen, kann ich einfach auf die oben zitierten kritischen Einwände verweisen. Wenn LEWITSKY bemüht ist, die Existenz von Filarstrukturen in lebenden Zellen von *Elodea canadensis* nachzuweisen, so ist dies eine kleine nette Arbeit. Aber hat denn wohl jemand bezweifelt, daß es Filarstrukturen in der lebenden Zelle gibt? Ich habe in einer früheren Arbeit[1]) einige Angaben hierüber zusammengestellt. Sehr zweifelhaft ist dagegen die Behauptung LEWITSKYS, daß die Leukoplasten aus diesen Fäden hervorgingen. Dies meint auch RUDOLPH, der die Angaben LEWITSKYS über *Asparagus officinalis* nachgeprüft hat.

Die Ergebnisse RUDOLPHS (13) gehen in der Richtung, daß im Urmeristem des Vegetationspunktes »Körnchen« von etwas verschiedener Größe vorhanden sind. Von diesen Körnchen wachsen einige rasch heran und werden zu Chromatophoren (Chloroplasten, Leukoplasten), die restierenden

[1]) Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. XLVIII. 1910. S. 360.

Körner verharren in ursprünglicher Größe und gehen als integrierende Elemente in die Struktur des Plasmas ein (Rudolph bezeichnet sie als Mitochondrïen). Die Teilungsfiguren der Leukoplasten sind bisweilen — auch in älteren Geweben — stark in die Länge gezogen, so daß sie sich Stäbchen- und Fadenformen mit angeschwollenem Ende annähern Nach der Meinung Rudolphs beruhen also die Angaben Lewitskys auf einer Verwechslung der Jugendstadien von zwei physiologisch ganz verschiedenartigen Bildungen, den Chromatophoren und den Granula- oder Filarstrukturen (»Mitochondrien«; warum bevorzugt man diesen schlechten Namen?). Neulich hat auch Scherrer (15) gefunden, daß bei *Anthoceros Husnoti* Chromatophoren und Filarstrukturen nebeneinander vorkommen, ohne daß irgendwelche morphologische Beziehungen zwischen ihnen erkennbar sind.

Eine ganz sichere Unterscheidung zwischen jungen Chromatophoren und Granula oder Filarstrukturen im Plasma läßt sich niemals auf morphologischem, sondern erst auf physiologischem Wege erzielen. Auch betreffs der vielen überall aufgefundenen pflanzlichen Filarstrukturen bleibt noch zu untersuchen, ob sie nicht etwa wie die von Boresch untersuchten Fäden in den Moosen aus Fett beständen, denn kein Cytomorphologe will wohl behaupten, daß die Chromatophoren ihren Ursprung aus Lipoidtröpfchen nehmen!

Über die ernährungsphysiologische Bedeutung der Filarstrukturen und Granula (»Mitochondrien«) weiß man etwas nur in den oben geschilderten Fällen, in denen man auch chemisch gearbeitet hat. Sonst finden sich hier bekanntlich viele Hypothesen. Zoologischerseits hat man u. a. vermutet, daß die Mitochondrien Vorstadien verschiedener Zellprodukte wie Secrete, Dottersubstanz, Fibrillen wären oder daß sie ein Zellskelett darstellten oder etwas mit Enzymbildung zu tun hätten. Diese Bereitwilligkeit, mit der man in den Mitochondrien allerlei Funktionen untergebracht hat, erinnert an die Bemühungen der älteren Gehirnanatomen, alle Seelenvermögen in bestimmten Gebieten der Großhirnrinde zu lokalisieren. Offenbar handelt man hier auf Grund eines apriorischen Prinzips unsrer Vernunft. Es bietet nämlich große Schwierigkeiten, uns eine Funktion deutlich vorzustellen, ohne dieselbe an ein Substrat zu binden. Deshalb ist man bemüht gewesen, in der Zelle Organe für ihre vielseitigen Funktionen und Eigenschaften aufzufinden, und so entstanden viele Vererbungstheorien und die soeben genannten Hypothesen über die Organnatur der Mitochondrien. In der Wirklichkeit dürfte es nun aber sehr wenige echte, autonom sich fortpflanzende Organe geben, nämlich Kern und Plastiden, die ja bestimmte Funktionen ausüben.

Die meisten Fähigkeiten der Zelle kommen aber durch Zusammenarbeit zwischen diesen Organen und den verschiedenen Teilen des Protoplasmas zustande, und was wir als besondere Strukturen erblicken, sind entweder Zwischenprodukte im Stoffwechsel (wie die Fettstrukturen, vgl. oben. die Strukturen in *Ascaris*, vgl. von Kemnitz) oder aber die ausgeschiedenen Endprodukte einer unsichtbaren Stoffwechseltätigkeit in der Zelle (Fibrillen usw.).

Bei den erwähnten Hypothesen über besondere Funktionen der Chondriosomen stützt man sich meistens auf das Auftreten derselben in Zellen, die eine spezielle Tätigkeit entwickeln, also gleichzeitig mit bestimmten Stoffwechselvorgängen, und macht dabei den Fehlschluß, daß sie die Ursache dieser Vorgänge seien. Oder man beruft sich einfach darauf, daß die Mitochondrien mit kleinen Körnchen besetzt sind und spricht dann von einer »secretorischen« Tätigkeit der ersteren (Guillermond [2][1]), Lewitsky [7]), ohne irgendwelche physiologische Beweise zu versuchen. Es sei betreffs der morphologischen Schilderungen der genannten Autoren nochmals als Vergleich auf die oben erwähnten Untersuchungen Löwschins und Boreschs verwiesen.

Als ein Beispiel für die staunenswerte Gestaltungfähigkeit plasmatischer Elemente sei eine Untersuchung von Harper und Dodge (3) über die Bildung des Capillitiums in gewissen Myxomyceten erwähnt. Unter Capillitium versteht man bekanntlich isolierte oder netzförmig verbundene spiralgedrehte Fasern oder Röhrchen. die im Plasma zwischen den Sporen gebildet werden. Wie schon Strasburger geschildert hat, beginnt die Bildung des Capillitiums mit dem Auftreten von ovalen oder unregelmäßig gestalteten Vacuolen, welche frühzeitig zu Serien und anastomosierenden Systemen von eckigen Höhlungen im Plasma miteinander verbunden werden. Nach Harper und Dodge bewegen sich die Kerne gegen diese Vacuolen und bilden in einem Stadium eine Schicht um den entstehenden Faden. Um die Capillitiumvacuolen werden ferner »fibrillar asters« sichtbar, welche aus feinen fadenartigen Zügen bestehen, die von dem Capillitium ausgehend in allen Richtungen das umgebende Plasma durchsetzen. Nach den Verfassern stellen sie cytoplasmatische Strömungen vor, welche Material an die Capillitiumwandung transportieren. Die Capillitiumfäden bestehen anfangs aus Körnchenreihen, welche nachher verschmelzen.

[1]) Nach Guillermond (2) wären die Mitochondrien nicht nur «générateurs des leuco-chloro- et chromoplastes», sondern hätten auch «un rôle beaucoup plus général», indem sie beim Zubereiten «des produits de sécrétion et de différenciation divers de la cellule» mitwirkten. Ferner vertritt er die Hypothese von der Autonomie der Mitochondrien.

Besprochene neue Abhandlungen (Botanik).

1. Boresch, K. Über fadenförmige Gebilde in den Zellen von Moosblättern und Chloroplastenverlagerung bei Funaria. Zeitschr. f. Botanik. Jahrg. 6. Hft. 2. 1914. S. 97—156. Taf. I.
2. Guillermond, A. Recherches cytologiques sur le mode de formation de l'amidon et sur les plastes des végétaux. Arch. d'anat. microsc. T. XIV. Fasc. 3. 1912.
3. Harper, R. A. and Dodge, B. O. The formation of the capillitium in certain myxomycetes. Annals of Botany. Vol. XXVIII. Nr. 190. Jan. 1914. S. 1.
4. Lepeschkin, W. W. Über die Struktur des Protoplasmas. Ber. d. d. botan. Gesellsch. Jahrg. XXIX. 1911. S. 181—190.
5. Lewitsky, G. Vergleichende Untersuchungen über die Chondriosomen in lebenden und fixierten Pflanzenzellen. Ber. d. d. Bot. Gesellsch. Bd. XXIX. Hft. 10. 1912. S. 685—696. Taf. XXVII.
6. —— Die Chloroplastenanlagen in lebenden und fixierten Zellen von Elodea canadensis Rich. Ebenda. S. 697—703. Taf. XXVIII.
7. —— Die Chondriosomen als Secretbildner bei den Pilzen. Ebenda. Bd. XXXI. Hft. 9. 1913. S. 517—528. Taf. XXI.
8. Löwschin, A. M. »Myelinformen« und Chondriosomen. Ber. d. d. bot. Gesellsch. Bd. XXXI. Hft. 4. 1913. S. 203—209.
9. Meyer, A. Bemerkungen zu G. Lewitsky: Über die Chondriosomen in pflanzlichen Zellen. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XXIX. 1911. S. 158.
10. Magnus, W. Über zellenförmige Selbstdifferenzierung aus flüssiger Materie. Ber. d. d. botan. Gesellsch. Bd. XXXI. Hft. 6. 1913. S. 290—303.
11. Orman, E. Recherches sur les différenciations cytoplasmiques (ergastoplasme et chondriosomes) dans les végétaux. I. Le Sac embryonnaire des Liliacées. La Cellule. T. XXVIII. Fasc. 2. 1912. p. 365—437. Pl. I—IV.
12. Pensa, A. Osservazioni di morfologia e biologia cellulare nei vegetali (mitocondri, cloroplasti). Arch. f. Zellforsch. Bd. VIII. 1912.
13. Rudolph, K. Chondriosomen und Chromatophoren. Ber. d. d. botan. Gesellsch. Bd. XXX. Hft. 9. 1912. S. 605—629. Taf. XVIII.
14. Ruhland, W. Weitere Untersuchungen zur chemischen Organisation der Zelle. Ber. d. d. botan. Gesellsch. Bd. XXXI. Hft. 9. 1913. S. 553—556.
15. Scherrer, A. Die Chromatophoren und Chondriosomen von Anthoceros. Ber. d. d. botan. Gesellsch. Bd. XXXI. Hft. 8. 1913. S. 493—500. Taf. XX.
16. Schmidt, E. W. Pflanzliche Mitochondrien. Progr. rei botan. Bd. IV. Hft. 2. 1912. S. 163—181. 6 Fig.
17. Szüzs, J. Über einige charakteristische Wirkungen des Aluminiumions auf das Protoplasma. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. LII. 1913. S. 269—332.

Referate.

HUTH, W. Zur Entwicklungsgeschichte der Thalassicollen. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXX. S. 1—124 mit 20 Tafeln u. 21 Textfiguren.

Durch die vorliegende Untersuchung werden die bisher nur unvollkommen bekannten Entwicklungsvorgänge der interessanten Radiolariengruppe in cytologischer Hinsicht so weitgehend geklärt, daß sich die komplizierten und zunächst recht widerspruchsvoll erscheinenden Bilder nunmehr relativ einfach verstehen und aneinanderreihen lassen. Zwei Entwicklungsreihen sind danach zu unterscheiden, die von HUTH als »Schlauchkernserie« und »Spindelkernserie« bezeichnet werden. Beide gehen auf ein gemeinsames Jugendstadium zurück, das durch einen eigenartigen, aus »wasserklarem Kernsaft« und einem großen gelappten »Binnenkörper« bestehenden Kern charakterisiert ist. Auch die Weiterentwicklung stimmt bei beiden Serien zunächst insofern überein, als der ursprünglich wohl das gesamte generative Material enthaltende Binnenkörper chromatische Substanz an den Außenkern abgibt und allmählich zerfällt. Die chromatische Substanz findet sich dann im Kern in Form von Körnern, Klumpen und zahlreichen Strängen.

Bei der »Schlauchkernserie« nun treten die Chromatinstränge immer mehr hervor und knäueln sich spiremartig. Jedes derartige Spirem verhält sich im weiteren ganz wie bei einer gewöhnlichen Kernteilung. Es kommt also auch hier zu zahlreichen Teilungen und im Zusammenhange damit zur Ausbildung zahlreicher kleiner Kerne innerhalb des großen Primärkernes. Diese Sekundärkerne ordnen sich unter ständigen weiteren Durchschnürungen in Reihen, und zwar innerhalb einer hyalinen schlauchartigen Grundsubstanz. In solchen Schläuchen bleiben sie weiterhin zusammengeschlossen, um dann in dieser Form die starke Kernmembran zu durchbohren und in das Plasma überzutreten, das sie zunächst radiär nach allen Richtungen durchsetzen. Der Primärkern kann auch nach dem Austritt der »Schläuche« lange erhalten bleiben, um erst auf späteren Stadien allmählich zugrunde zu gehen. Die Schläuche lösen sich späterhin im Plasma auf, die Kerne treten unter ständiger weiterer Vermehrung auseinander, und jeder von ihnen umgibt sich mit einer Plasmapartie, so daß schließlich die gesamte Centralkapsel des Radiolars von kleinen Sporen erfüllt ist. Sehr charakteristisch für diese ganze Entwicklungsreihe sind die glockenförmigen und sehr chromatinreichen Teilungsfiguren. Die achromatischen Komponenten treten daneben stark zurück, so daß besonders bei den späteren Teilungen nur noch Centriole, aber kaum mehr Spindelfasern zu erkennen sind.

Dem gegenüber wird die zweite Entwicklungsreihe, die »Spindelkernserie«, die gleichfalls zur Ausbildung zahlreicher »Sporen« führt, durch das Auftreten tönnchenförmiger, relativ chromatinarmer Teilungsspindeln mit sehr klaren Spindelfasern und Centriolen charakterisiert. Und wesentlich anders und komplizierter als bei der Schlauch-

kernserie erscheint nach den Angaben des Verf. hier die ganze Genese. Während bei der Schlauchkernserie die im Kern des »indifferenten« Jugendstadiums entstandenen chromatischen Fäden sich zu Spiremen zusammenknäuelten und unmittelbar Sekundärkerne bildeten, lösen sie sich bei der zweiten Reihe vollständig auf, und die gesamte chromatische Substanz des Kernes wird staubförmig verteilt. In dieser Form soll sie nun durch Poren der Kernmembran in das Plasma übertreten und sich dort stark vermehren, um alsdann sekundär zum völlig achromatisch gewordenen Kern zurückzuwandern und diesen allmählich wieder zu »rechromatisieren«. Bei dieser Rückwanderung nach HUTH sind dann an der Kernmembran beginnend und im weiteren Verlauf immer deutlicher werdend chromatinarme mitotische Teilungsfiguren zu beobachten. — Ob sich nun die Genese in dieser von HUTH angegebenen komplizierten Folge abspielt oder ob es sich nicht — wie Ref. plausibler erscheinen will — beim Achromatisch- und späterhin Wiederchromatischwerden des Primärkernes vielleicht nur um Wechsel in der Färbbarkeit der Kernsubstanzen auf verschiedenen Stadien handelt —, jedenfalls zerfällt abweichend von dem Verhalten bei der Schlauchkernserie hier der ganze Primärkern nach seiner Rechromatisierung in zahlreiche Teilstücke. Die Sekundärkerne zerschnüren sich dabei immer weiter unter Bildung der oben erwähnten chromatinarmen Tönnchenfiguren und werden von sich sondernden Plasmapartien umgeben, so daß auch hier schließlich zahlreiche Sporen entstehen.

Zu erwähnen wäre noch, daß die aus der Spindelkernserie hervorgehenden Sporen stets Fettsubstanzen enthalten, während bei der Schlauchkernreihe das in der Centralkapsel ursprünglich gleichfalls reichlich vorhandene Fett im Laufe der Sporengenese vollständig verbraucht wird.

Beide Entwicklungsreihen (die in seltenen Fällen — bei zweikernigen Individuen — im selben Radiolar nebeneinander verlaufen können) enden also mit dem Zerfall des Radiolars in zahlreiche kleine sogen. »Sporen«. Die Weiterentwicklung dieser Stadien konnte nicht verfolgt werden, doch sprechen sonst vorliegende Beobachtungen durchaus dafür, daß es sich hier um Gameten (»Makro-« und »Mikrosporen«) handelt.

Verf. weist nun auf mannigfache Übereinstimmungen zwischen den cytologischen Bildern bei der Spindelkernserie und mancher Oogenesen und anderseits zwischen den Schlauchkernmitosen und denen der Spermatogenese zahlreicher Metazoen hin. Aus diesen Ähnlichkeiten schließt er, daß die Schlauchkernreihe die Entwicklung der männlichen, die Spindelkernserie, die der weiblichen Gameten darstellt. Zugunsten dieses Schlusses spricht natürlich auch das Vorhandensein von Reservestoffen in den Sporen der Spindelkernserie (dagegen aber Beobachtungen an Collozoen, Ref.).

Auf Einzelheiten der mannigfachen interessanten cytologischen Beobachtungen des Verf. einzugehen, ist im Rahmen eines Referates natürlich nicht möglich, hingewiesen sei aber noch auf die überaus zahlreichen, der Arbeit beigegebenen Mikrophotogramme, durch die die meisten der erwähnten Angaben dokumentarisch festgelegt sind.

Aber auch für allgemeine cytologische Anschauungen bietet die Untersuchung wertvolles Material: So ist wiederum für eine Protozoengruppe klar das Vorhandensein von Centren bei der Kernteilung gezeigt und vor allem ein besonders schönes Beispiel »polyenergider Kernbildung« (HARTMANN) gegeben. Wird doch Schritt für Schritt bei der Schlauchkernserie (und nicht ganz so klar auch bei der Spindelkernreihe) die Entstehung und Vermehrung vollständiger kleiner Kerne innerhalb des Primärkerns nachgewiesen, Vorgänge, die wohl nur — dann aber auch ohne weiteres — vom Standpunkte der erwähnten, von HARTMANN entwickelten Anschauung aus verständlich sind.

V. Jollos (Berlin).

Wenyon, C. M. Observations on *Herpetomonas muscae domesticae* and some allied flagellates. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXXI. S. 1—36.

Genauere Untersuchung des Baues und der Vermehrung des wegen seiner Verwandtschaft mit den Trypanosomen verschiedentlich beschriebenen Darmflagellaten der Fliege. Hauptkern und Kinetonucleus (Blepharoplast) dieser zur Gruppe der »Binucleaten« (Hartmann) gehörigen Form besitzen im Prinzip den gleichen Bau: ein kompaktes Karyosom, Außenkern und Kernmembran. Im Hauptkern ist ein Centriol nachweisbar, das meist im Innern des Karyosoms, gelegentlich auch im oder an der Kernmembran liegt. Ob sich im Kinetonucleus gleichfalls ein derartiges Teilungsorganell befindet, kann Verf. wegen des dichten, keine feinere Differenzierung zulassenden Baues nicht entscheiden: für seine Existenz spricht die zu Beginn der Kinetonucleusteilung zu beobachtende Streckung des Karyosoms, — dagegen, daß (nach Ansicht Wenyons) das dem Kinetonucleus anliegende Basalkorn die Rolle eines Teilungscentrums bei ihm zu übernehmen scheint. Die Durchschnürung des Kernes wird stets durch eine Teilung des Centriols eingeleitet; der weitere Verlauf ist dagegen sehr variabel. Zum Teil wohl infolge der variablen Lage der Centriole. Das Karyosom kann sich entweder einfach strecken und dann hantelförmig durchschnüren, oder aber es zerfällt in verschieden zahlreiche Stücke, die an die beiden Pole wandern. Manche der zu beobachtenden Bilder können dabei Stadien einer echten Mitose vortäuschen. Die Geißel wird bei der Vermehrung niemals geteilt, sondern stets vom Basalkorn aus neu gebildet. Die neue Geißel kann sich aber bei ihrem Wachstum eng an die alte legen, sodaß man Bilder erhält, wie sie häufig bei verschiedenen Flagellaten irriger Weise als Geißelteilung beschrieben worden sind. — Verschiedene andre zum Vergleich vom Verfasser herangezogene Binucleaten weisen ganz entsprechende Kern- und Geißelverhältnisse auf, während bei *Cercomonas* eine klare Mitose nachweisbar ist, bei der die Basalkörner als Teilungscentren fungieren. [In cytologischer Hinsicht sind die Befunde Wenyons an den Binucleaten im wesentlichen eine Bestätigung der älteren Angaben von Rosenbusch für Trypanosomen. Nur die von Rosenbusch sowohl für den Kern wie für den Kinetonucleus beschriebenen Mitosen werden von Wenyon wie auch von andern angezweifelt, wohl mit Unrecht. Denn die Mitosestadien Rosenbuschs erscheinen derartig klar, daß sie trotz ihrer relativen Seltenheit gegenüber andern Teilungsbildern schwerlich anders gedeutet werden dürfen. Ref.]

V. Jollos (Berlin).

Fermor, H. Einige neue Befunde aus der Entwicklungsgeschichte von *Arcella vulgaris*. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXXI. S. 39—46.

In Kulturen von *Arcella* konnte die Verf. nach einer Periode intensiver Vermehrung den Austritt des Weichkörpers aus der Schale und im Anschluß daran die Bildung kugeliger (als »Cyste« bezeichneter) Körper verfolgen. Der Inhalt jeder dieser Cysten zerfällt in eine Anzahl von einer Hülle umgebener Amöben, die späterhin auskriechen und sich in typische Arcellen verwandeln, unter Umständen sich aber weiter in eine Anzahl kleiner Amöben teilen. Die ursprünglichen Kerne sollen bei diesen Vorgängen degenerieren und neue aus dem »Chromidium« entstehen. — Auch bei den lange bekannten, innerhalb der *Arcella*-Schale entstehenden Cysten beschreibt die Verf. vollständigen Kernzerfall, so daß der Cysteninhalt schließlich nur eine »homogene fein-

körnige Masse« darstellt. Eine Weiterentwicklung solcher Cysten ist bisher nicht erzielt. —

[Der prinzipiell wichtigste Punkt, die so oft behauptete Entstehung neuer Kerne durch Kondensierung von Chromidien, erscheint auch in diesem Falle durchaus nicht bewiesen. Bei den als »Kernanlagen« beschriebenen und abgebildeten angeblichen Chromidienverdichtungen dürfte es sich nach zahlreichen Beobachtungen des Ref. um vollständige kleine Kerne handeln, die nur zum Teil durch die »Chromidialsubstanz« überdeckt sind.]

V. Jollos (Berlin).

Prowazek, S. v. Studien zur Biologie der Protozoen. VI. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXXI. S. 47—71.

Der erste Teil der vorliegenden Veröffentlichung bringt an tatsächlichen Befunden nur die wohl kaum mehr eines Beweises bedürfende Feststellung, daß die formbestimmenden Elemente bei Infusorien wie Trypanosomen »hauptsächlich im Ectoplasma im weiteren Sinne des Wortes zu suchen sind«. Daneben enthält der Abschnitt längere Auseinandersetzungen über den Begriff der »Morphe«, ein Begriff, der Ref. kaum zur Vertiefung des Verständnisses beizutragen scheint.

Im zweiten Abschnitt werden Versuche über die Färbbarkeit von Lecithinen mitgeteilt, aus denen hervorgeht, daß sich derartige Verbindungen färberisch ganz wie Kernsubstanzen verhalten können. »Diese Beobachtungen gemahnen uns bei der Anwendung des alten Chromidienbegriffes, der in der letzten Zeit so weitgehende Einschränkungen bereits erfahren mußte, zu einer noch erhöhten Vorsicht.«

Ein dritter Abschnitt enthält Mitteilungen über die Anordnung des Chromatins und die chromosomalen Bildungen bei Ciliaten, *Euglena* und *Actinophrys*.

V. Jollos (Berlin).

Wherry, W. B. Studies on the biology of an Amoeba of Limax group. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXXI. S. 77—94.

Beobachtungen an einer vom Verf. zur Limaxgruppe gestellten gut kultivierbaren Form unter verschiedenen Ernährungs-, Temperatur- und chemischen Bedingungen. Neben den gewöhnlichen einkernigen fanden sich auch vielkernige Formen — sowohl vegetative wie Cysten —; neben promitotischer Kernteilung auch »amitotische« Durchschnürung, und zwar anscheinend vor allem bei Sauerstoffmangel.

[Bei dieser »Amitose« dürfte doch wohl nur eine schneller verlaufende und weniger klar hervortretende »Promitose« vorliegen — Erscheinungen, die ja auch bei andern Protisten unter veränderten Außenbedingungen zu beobachten sind. Ref.]

Wherry spricht ferner von einer "endogeneous bud formation", bei der es sich aber, soweit die beigegebenen Abbildungen zeigen, offenbar nur um aufgenommene Fremdkörper bzw. gefressene kleine Individuen und Cysten der gleichen Art handelt. — Unter bestimmten Kulturverhältnissen (höhere Temperatur, Sauerstoffreichtum) endlich traten zweigeißelige Flagellatenstadien auf, entsprechend den Beobachtungen von Wasielewski und Hirschfeld, Whitmore u. a. an verschiede-

nen limaxamöbenartigen Formen. [Es empfiehlt sich daher wohl, diese Arten mit geißeltragenden Stadien nicht zu den übrigen Amöben, sondern zu den Flagellaten zu stellen. Ref.].

V. Jollos (Berlin).

Fiebiger, J. Studien über die Schwimmblasencoccidien der *Gadus*-Arten (*Eimeria gadi* n. sp.). In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXXI. S. 95—137.

Beschreibung des Entwicklungskreises einer in der Schwimmblase von Gadiden in großen Mengen vorkommenden Coccidienart. Schizogonie wie Sporogonie spielen sich vollständig im selben Wirte ab, und auch die Sporen können sich im gleichen Tiere weiter entwickeln und neue Teile derselben Schwimmblase befallen. Bei der Masse der Parasiten und ihrer Anhäufung im Lumen der Schwimmblase war auch eine für parasitische Protozoen selten günstige Gelegenheit zu einer chemischen Untersuchung gegeben. Von den (von Panzer) hierbei gewonnenen Resultaten sei der relativ große Gehalt der Coccidienleiber an Lipoiden sowie ein wesentlicher Unterschied in der Zusammensetzung des Fettes gegenüber dem der Wirtstiere erwähnt. Merkwürdigerweise konnten weder Nucleoproteide noch deren Spaltungsprodukte nachgewiesen werden!

V. Jollos (Berlin).

Beauchamp, P. de. Recherches sur les *Rhytidocystis* parasites des Ophélies. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXXI. S. 138—168.

Verf. gibt eine Darstellung der Wachstums- und Sporenbildungsvorgänge eines dem Aussehen nach gregarinenartigen Parasiten von *Ophelia neglecta* sowie der von ihm hervorgerufenen Veränderungen in den Geweben des Wirtes. Cytologisch von Interesse sind vor allem die Kernvermehrungsprozesse vor der Sporenbildung: Der große Primärkern gibt chromatische Substanz an das Plasma ab und wandert von der Mitte der Zelle an die Peripherie. Hier verliert er seine frühere scharfe Begrenzung und bildet eine sich ständig peripher weiter ausbreitende Kappe, während der anfangs einheitliche Binnenkörper in seinem Innern in zahlreiche kleine Stücke zerfällt. Nach der weiteren Ausbreitung der Kernsubstanz ist ihre Trennung in viele einzelne oberflächlich gelegene stark färbbare Brocken zu beobachten, an denen sich bei guter Differenzierung mitotische Teilungen erkennen lassen. Aus dem Primärkern (bzw. seiner generativen Komponente) sind demnach zahlreiche Tochterkerne entstanden, die sich noch intensiv vermehren. Auf späteren Stadien der Vermehrung treten Centriole mit Centrodesmose und chromosomenartige Bildungen deutlich hervor, während bei den ersten Teilungen keine derartigen »Chromosomen« nachweisbar waren.

Verf. weist mit Recht darauf hin, daß man bei unzureichender Differenzierung und nicht genauer Beobachtung leicht den unmittelbaren genetischen Zusammenhang zwischen Primär- und Sekundärkernen und auch die ersten Teilungen der Sekundärkerne übersehen und demgemäß dann die weiteren Stadien fälschlich als Entstehung von Sekundärkernen aus Chromidien deuten kann. [Und in der Tat erklärt sich wohl manche der augenblicklichen Entstehungen von Kernen aus Chromidien in ähnlicher Weise. Ref.]

V. Jollos (Berlin).

Dobell, C. Observations on the life-history of Cienkowskys »*Arachnula*«. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXXI. S. 317—353.

Verf. schildert die Bewegung und Nahrungsaufnahme sowie besonders Fortpflanzungsvorgänge des interessanten, von Cienkowsky entdeckten und seitdem nur wenig untersuchten Rhizopods. Bei der Bewegung der *Arachnula* kommt es zu einer Schleimausscheidung an der ganzen Oberfläche. Die Nahrung wird in der für Rhizopoden üblichen Weise durch Umfließen aufgenommen, danach aber bildet *Arachnula* charakteristische »Verdauungscysten«, aus denen sie unter Zurücklassung unverdaulicher Nahrungsüberreste (Diatomeenschalen u. dgl.) nach längerer Zeit, vermutlich mindestens zwei Tagen, wieder ausschlüpft. Die Vermehrung erfolgt nach Dobell gleichfalls nur innerhalb einer Cystenmembran, wenn man von selten zu beobachtenden Zerschnürungen ausgebreiteter Plasmodien absieht. Die frei beweglichen Formen besitzen meist eine große Anzahl kleiner Kerne, die aus einem centralen Karyosom, einem schwach entwickelten Aussenkern und wahrscheinlich einer sehr feinen Membran bestehen. Außerdem ist das Plasma von körnigen »Chromidien« erfüllt und enthält mehr oder weniger zahlreiche kontraktile Vacuolen. Zu Beginn der Bildung der »Vermehrungscysten« stößt *Arachnula* alle Nahrungsüberreste aus, und ebenso schwinden die Chromidien, so daß ein klares Plasma übrig bleibt, in dessen inneren Partien sich die Kerne befinden, während die kontraktilen Vacuolen sämtlich peripher angeordnet sind. Im weiteren Verlauf der Entwicklung entsteht im Innern der Cyste eine ständig wachsende und schließlich den ganzen centralen Teil einnehmende Vacuole, um die herum sich die Kerne gruppieren. Die Kerne selbst sollen Chromidien neu ausscheiden und im Zusammenhang damit immer schlechter färbbar und unscheinbarer werden, um sich schließlich, nach Meinung Dobells, gänzlich aufzulösen. Immerhin bleiben größere Chromatinkörner erhalten, die sich aus dem Chromidium herausheben und die Dobell selbst für die Karyosome der ursprünglichen Kerne zu halten geneigt ist. Die Weiterentwicklung soll nun in der Weise erfolgen, daß das Plasma sich segmentiert und die einzelnen Durchschnürungsstücke frei werden. In jedem von ihnen entständen dann unter gleichzeitigem Heranwachsen aus den Chromidien echte Kerne, so daß damit das vegetative Ausgangsstadium erreicht wäre.

Nach Dobells Darstellung würden also die Primärkerne in Chromidien zerfallen und aus diesen sekundär wieder neue Kerne entstehen. Gegenüber der entsprechenden Anschauung R. Hertwigs möchte Dobell in der »Chromidienausstoßung« eine multiple Kernteilung und in jedem einzelnen der entstehenden chromidialen Körner bereits einen vollständigen Kern sehen, der späterhin nur noch anwächst. Er wiederholt damit natürlich im Grunde genommen nur die vor allem von Hartmann entwickelten Vorstellungen über »polyenergide Kerne« und multiple Kernteilung — mit dem Unterschiede nur, daß Hartmann sich auf günstigere Objekte stützen konnte, bei denen die dem multiplen Zerfall vorausgehenden, von Dobell bezweifelten, intranucleären Teilungen nachweisbar waren, während im Falle von *Arachnula*, wie Dobell selbst erklärt, die überaus geringe Größe der Kerne und Kernderivate jede weitere Analyse ausschließt.

Ref. möchte es demgemäß auch dahingestellt sein lassen, ob bei *Arachnula* tatsächlich eine derartige multiple Kernteilung stattfindet oder ob nicht die primären Kerne dennoch erhalten bleiben (vgl. z. B. *Entamoeba coli*), aber zeitweilig schlecht färbbar und durch die darüber liegenden chromidialen Substanzen verdeckt werden, eine Auffassung, an die das auch von Dobell für möglich erklärte Überdauern der Karyosome denken läßt.

V. Jollos (Berlin).

ROBERT BRAUNE. Untersuchungen über die im Wiederkäuermagen vorkommenden Protozoen. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXXII. S. 111—170. T. 3—6.

Die Untersuchung der Protozoen aus Pansen von Rind und Schaf sowie Cöcum vom Pferd ergab Erweiterungen und Berichtigungen der bisherigen Ergebnisse (von SCHUBERG, EBERLEIN, GÜNTHER und LIEBETANZ).

Die *Amoeba bovis* Liebetanz ist nach Bewegung und Kernstruktur eine Entamöbe; ihre Kernteilung wurde nicht beobachtet.

An Flagellaten fanden sich *Monas* [= *Sphaeromonas* Liebetanz] *communis* und *Piromonas communis*, ferner drei neue Arten: Von *Trichomastix ruminantium* und *Trichomonas ruminantium* wurde keine Fortpflanzung beobachtet. *Callimastix frontalis* nov. spec. besitzt zwölf zu einem »Schlagband« verklebte Geißeln. Diese inserieren mit zwölf Basalkörnern auf dem körnchenarmen und schwach färbbaren »Stirnfeld«, das von WEISSENBERG bei *Callimastix cyclopis* als »Macronucleus« beschrieben war. Den »Micronucleus« WEISSENBERGS faßt BRAUNE als den eigentlichen Kern auf. Von *Callimastix frontalis* bildet Verf. eine typische Mitose mit Äquatorialplatte und Centriolen an beiden Polen ab.

Der Hauptteil von BRAUNES Arbeit beschreibt die Morphologie der parasitierenden Ciliaten; der Holotrichen *Isotricha ruminantium* [= *Dasytricha* v. Schuberg], *Isotricha prostoma* und *Isotricha intestinalis* sowie der Ophryoscoleciden *Entodinium bursa* und *Ophryoscolex purkynjei*. Bei *Isotricha* konnte Verf. die Basalkörper der Cilien klar darstellen; die Cilien gehen proximal von ihnen noch bis zu einer zweiten Membran, auf der sie mit Verdickungen endigen. Besonders eingehend wurden die Fibrillen untersucht, die in komplizierten Systemen auftreten. Die »Kernstiele« SCHUBERGS (bei *Isotricha*) erklärt BRAUNE als »Schlundstützen«, die erst sekundär die Kerne zwischen sich aufgenommen haben«; ihnen analog dienen andre Fibrillen als »Afterstützen«. Bei den Ophryoscoleciden wird der komplizierte Stützapparat mit Längs- und Querfibrillen eingehend beschrieben. Die »Myoneme« GÜNTHERS in den stachligen Körperfortsätzen von *Ophryoscolex* sind elastische Stützfibrillen. Bei der Teilung von *Entodinium* treten im Innern des Micronucleus Centriole auf, die durch eine deutliche Centrodesmose verbunden sind.

Als physiologische Bedeutung der Ciliaten, die übrigens nicht frei im Mageninhalt herumschwimmen, sondern zwischen den festen Nahrungspartikeln »wühlen«, vermutet auch BRAUNE die Umwandlung der Cellulose in Stoffe, die das Wirtstier resorbieren kann.

Walter Mulsow (Berlin).

CONKLIN, E. G. Experimental Studies on nuclear and cell division in the eggs of *Crepidula*. In: Journal of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia. Vol. XV, 2d Ser. Philadelphia 1912. p. 501—591. 16 Plates.

Die vorliegende umfangreiche Untersuchung erstreckt sich über einen Zeitraum von 10 Jahren und umfaßt im ganzen 260 Experimente. Verf. bespricht zunächst die an den Eiern von *Crepidula* auftretenden:

1. Abnormitäten in der Natur: Es findet sich häufig ein Plasmalappen gegenüber einem oder beiden Spindelpolen, eventuell sogar schon vor Ausbildung der Spindel, deren Lage er so bereits anzeigt. Es handelt sich wohl um einen Ausdruck

verminderter Oberflächenspannung an dieser Stelle. Eine offenbar durch Druck hervorgerufene Anomalie ist die Verlagerung einer Furchungsspindel in toto in eine der Tochterblastomeren, wobei aber die »Zwischenkörper« an der Stelle der Einschnürung verbleiben. Weitere Anomalien sind: Bildung von sechs bis acht — anstatt von nur vier — Makromeren, die aber sämtlich den Wert von einer und zweier Blastomeren haben, da jede später ihre drei Mikromeren liefert (also kein »Anachronismus« [Roux])! Eine Anomalie, die — wie Versuche lehren — auf Verdünnung des Seewassers beruht, ist die Erscheinung, daß die Mikromeren den Dotter nicht umwachsen und auf diese Weise »Exogastrulae« liefern. — Die wichtigsten Ergebnisse der Versuchsreihen Conklins sind folgende:

2. Furchung isolierter Blastomeren: Die Furchung ist streng determiniert. Bei Isolierung auf dem Zweizellenstadium teilt sich jede halbe Blastomere in zwei Makromeren, worauf jede der Makromeren drei Mikromeren liefert. Bei Isolation auf dem Vierzellenstadium setzt sofort die Mikromerenbildung ein. Die Eier von *Crepidula* sind demnach typische »Mosaik«-Eier.

3. Wirkung von Druck: Durch Druck kann bereits die erste Teilung zu einer inäqualen werden. Ferner treten auf: Triaster und Tetraster, achrome Spindeln, große Mikromeren mit Dotterkugeln usw.

4. Wirkung des elektrischen Stromes: Bezüglich der Versuchsanordnung sei auf das Original verwiesen. Am zuverlässigsten war eine Einrichtung, bestehend aus zwei Graphitplatten, die mit der Batterie verbunden waren, und zwischen die die Eier gebracht wurden. Wie in allen übrigen Versuchen, so litten auch hier die frühen Stadien am meisten. Der Haupteffekt bestand in Chromatinverklumpungen ähnlich der Synapsis der Geschlechtszellen, ferner darin, daß die Tochterkerne keine Bläschenform annahmen. Verf. kommt auf Grund seiner Experimente zu dem Schluß, daß die »elektrische Theorie« der Mitose nicht richtig sein kann, daß die Spindel- und Strahlungsphänomene vielmehr der Ausdruck von Diffusionsvorgängen zwischen Centrosomen, Kern und Plasma seien.

5. Wirkung abnormer Temperatur: Besonders interessant ist die Wirkung hoher (32—37°) Temperatur. Sie äußert sich in einer Herabsetzung der Oberflächenspannung (die Konturen der Kerne werden unregelmäßig), in Verlust der Spindelfasern und Centrosomen, Zerstreuen der Chromosomen, die oft aus der mitotischen Figur eliminiert werden, in Karyomeritenbildung u. a.

6. Einwirkung von Äther führt zu unregelmäßigen Mitosen, Chromatinverklumpungen usw.

7. Verminderte Oberflächenspannung verzögert oder sistiert die Weiterentwicklung.

8. Einwirkung von CO_2 äußert sich darin, daß die Zellmembranen chromatisch werden und der Dotter ungefurcht bleibt.

9. Verdünntes Seewasser bewirkt Anschwellen der Eier, verzögerte Entwicklung, Polyasterbildung, Unregelmäßigkeiten in der Chromosomenverteilung, sowie der Furchung des Dotters.

10. Die Einwirkung von hypertonischem Seewasser hat Verf. besonders eingehend studiert. Die Hypertonie wurde durch Zusatz von (meistens) NaCl, ferner von $MgCl_2$, KCl u. a. erzeugt. Eine »spezifische« Wirkung einzelner Salze zeigte sich dabei nicht. Die beobachteten Erscheinungen sind im wesentlichen folgende: a) Unterdrückung der Teilung des Dotters, ohne Unterdrückung von Plasma-, Kern- und Centrosomenteilung. b) Unterdrückung von Dotter- und Plasmateilung, ohne solche von

Kern und Centrosomen. c) Unterdrückung jeder Art von Teilung, ohne Sistierung von Kernwachstum, oder Tötung der Zelle. d) Schrumpfung von Plasma, Kern, Chromatin und mitotischer Figur. e) Bildung von Cytastern und Polyastern. f) Unregelmäßigkeiten in der Chromosomenbewegung. g) Trennung von Chromatin und Achromatin. Was die Cytaster betrifft, so leiten sie sich von abgesprengten Teilen der achromatischen Figur ab. Sie nehmen »Aster«form während der Mitose, Bläschenform während der Ruhestadien an. Ein Entstehen von Centrosomen »de novo« konnte Verf. ebensowenig beobachten, wie eine Ausbildung der Cytaster zu Centren von Mitosen. Daß die Polyasterbildung nicht auf Kosten der Cytaster vor sich geht, erhellt u. a. daraus, daß man erstere in jedem Entwicklungsstadium, letztere fast nur auf dem Zweizellenstadium findet. — Auf Grund theoretischer Erwägungen kommt Verf. zu der Überzeugung, daß die Furchungscentrosomen sowohl vom ♂ als auch vom ♀ Pronucleus stammen können. Bei *Crepidula* liefert der ♀ Pronucleus die Teilungsorganelle. Bezüglich der Mitosenanomalien in hypertonischen Lösungen sei erwähnt, daß sich alle Übergänge zwischen normalen Mitosen und Amitosen finden. Ein vermittelndes Glied zwischen beiden Grenzfällen bilden die Fälle, in denen Karyomeritenbildung und Verschmelzung einzelner Chromosomen auftritt und letztere sich längs der Spindelfasern ausbreiten. — Was die merkwürdige Erscheinung der Abgrenzung von Chromatin und Achromatin in hypertonischen Lösungen anlangt, so sei noch bemerkt, daß die Tochterkerne kleine, dichte chromatische Körper bilden, denen sich das Achromatin in Gestalt eines kleinen Bläschens anlegt. In diese »Achromatinkerne« geht alles Achromatin mit Ausnahme von Centrosomen und Sphäre ein. — Eine übersichtliche tabellarische Zusammenstellung sämtlicher Versuche bildet den Schluß der interessanten Untersuchung.

v. Kemnitz (München).

Wassermann, F. Die Oogenese des *Zoogonus mirus* Lss. In: Arch. f. mikr. Anat. Abt. II. Bd. LXXXIII. S. 1—140. 4 Tafeln. 1913.

Goldschmidt (05) hatte folgende Darstellung der Oogenese von *Zoogonus* gegeben: Chromosomennormalzahl = 10, Pseudoreduktion findet nicht statt, 10 Chromosomen rücken in die Prophase I und werden so verteilt, daß 5 an jeden Pol gelangen (»Primärtypus«). Schreiners (08) fanden dagegen an Goldschmidts Präparaten: Chromosomennormalzahl = 24—26, Pseudoreduktion durch parallele Konjugation, reduzierte Zahl (12—13) in der Prophase I, hetero-homöotypische Reifeteilungen (also kein »Primärtypus«), Goldschmidt (09) hielt seine ursprüngliche Darstellung aufrecht. Grégoire (09), wieder an Goldschmidts Präparaten, gibt folgendes an: Chromosomennormalzahl = 10—14, Pseudoreduktion durch parallele Konjugation, reduzierte Zahl (5—7) in der Prophase I, hetero-homöotypische Reifeteilungen (also kein »Primärtypus«). Wassermann gibt nun folgende Darstellung: die Chromosomennormalzahl läßt sich nicht sicher ermitteln. Sie kann — nach Zählungen an Ovogonien- und Furchungsmitosen — zwischen 10 und 14 schwanken. (Verf. hat viel Mühe darauf verwandt, diese Verhältnisse aufzuklären, ohne zu einem bestimmten Resultat zu gelangen. Ref. kann die Frage nicht für prinzipiell ansehen, nachdem in letzter Zeit eine ganze Reihe von »Chromosomenkoppelungen« bekannt geworden sind, wie z. B. bei Hymenopteren [Nachtsheim, Armbruster 13], *Notonecta* [Browne 13], Geschlechtschromosomen von *Ascaris* [Edwards 10, Frolowa 13]. Da Verf. weiterhin eine end to end-Konjugation beschreibt, liegt es wohl am nächsten, die wechselnden Chromosomenzahlen auch auf solche »Chromosomenkoppelungen« zurückzuführen.) Im jungen

Ovocyten treten nun zwölf (Normalzahl!) häufig längsgespaltene Chromatinfäden auf, die sich aber nicht polar orientieren, vielmehr durch endweise Aneinanderreihung ein kontinuierliches Spirem bilden, das bald darauf wieder in sechs vielfach längsgespaltene Schleifen zerfällt, die sich nunmehr zur Bildung des Pachynema polar orientieren. Die Schleifen verblassen dann und es beginnt das eigentliche Wachstum der Ovocyte, in deren Verlauf es zu einer Bildung von Chromidien kommt. Eine eigentliche Synapsis konnte Verf. nur in nachweislich schlecht konserviertem Material beobachten. In der Prophase I erscheinen nun die sechs bivalenten durch end to end-Konjugation entstandenen längsgespaltenen Chromosomen und teilen sich in der I. Reifeteilung gemäß dem Längsspalt äquationell. Die II. Reifeteilung konnte nicht genau verfolgt werden. Sicher ist nur, daß die Chromosomen hier abermals nach einem Längsspalt getrennt werden! Ein Verhalten gemäß dem Primärtypus liegt also keinesfalls vor. Aus den eingehenden theoretischen Erörterungen Verf.s sei noch hervorgehoben, daß er die Synapsis für ein Kunstprodukt hält und die zugunsten der Parallelkonjugation von den Anhängern dieser Art von Pseudoreduktion angeführten Momente als nicht stichhaltig verwirft. (Ref. möchte bemerken, daß nach der vorliegenden Darstellung die Reifeteilungen bei *Zoogonus* immer noch nicht klar sind, was übrigens Verf. selbst zugibt. Nach der Schilderung Verf.s müssen beide Reifeteilungen Äquationsteilungen sein, also so, wie es Matschek [10] für Copepoden beschreibt, auf welche Arbeit Verf. indessen nicht eingeht. Die Figuren der Reifeteilungen selbst sprechen aber entschieden mehr für die Auffassung Grégoires! *Zoogonus* ist und bleibt eben für den Entscheid dieser Fragen ein denkbar ungünstiges Objekt.)

v. Kemnitz (München).

Cresswell Shearer and Dorothy Jordan Lloyd. On methods of Producing artificial Parthenogenesis in *Echinus esculentus* and the rearing of the parthenogenetic plutei through metamorphosis. In: Quart. Journ. micros. Sc. Vol. LVIII. Part 3. p. 523—551. 3 Plates. 1913.

Den Verf. ist es gelungen, Plutei aus normal befruchteten Eiern zur Metamorphose zu bringen. Es wurde nun versucht, parthenogenetisch erzielte Plutei zur Metamorphose zu veranlassen. Es gelang dies im ganzen bei 15 Plutei, die aber kurz nach der Metamorphose zugrunde gingen. Die besten Resultate bei der künstlichen Parthenogenese wurden mittelst einer Kombination der Methoden von Loeb und Délage erzielt (Membranbildung mit Buttersäure, dann Behandlung mit Tannin-Ammoniak. Genaue Technik im Original). Die so behandelten Eier erreichen das Pluteusstadium in der halben Zeit der normal befruchteten. Die parthenogenetischen Larven lassen sich stets von normalen, besonders an der Länge der Arme, unterscheiden (gegen Délage).

v. Kemnitz (München).

Hirt, Dr. med. Walter. Das Leben der anorganischen Welt. Eine naturwissenschaftliche Skizze. Verlag von Ernst Reinhard, München. 150 Seiten. 1903 Geb. Mk. 4,—.

Ausgehend von der Überlegung, daß das Problem der Urzeugung in dem Augenblick im Prinzip gelöst ist, in dem man zugibt, daß auch die anorganische Welt lebt, versucht Verf. den Nachweis zu liefern, daß es in der anorganischen Welt eine ganze

Reihe von »Lebenserscheinungen« gibt. Nach einleitenden Bemerkungen über das Leben im allgemeinen und einer Einteilung der lebenden Substanz in vier Zustände (die aber sehr anfechtbar ist) geht Verf. dazu über, diese Lebenserscheinungen der anorganischen Welt im einzelnen nachzuweisen. Einen breiten Raum in diesen Ausführungen nimmt die Schilderung der »Atmung« in der anorganischen Welt ein. Darunter versteht Verf. im wesentlichen die Fähigkeit vieler Flüssigkeiten und fester Körper Gase zu absorbieren. Er übersieht aber bereits hier, um nur einen Punkt herauszugreifen, daß, besonders für die höheren Organismen, die Sauerstoffaufnahme eine conditio sine qua non ist, im Gegensatz etwa zu einer Pyrogallollösung. — Auch für die pathologischen Prozesse in der organischen Welt sucht Verf. Analoga in der anorganischen. In diesem Sinne sucht er u. a. die sogenannte Zinnpest, das »überpolte« Kupfer und die Erscheinung, daß mit Schwefelammonium »vergiftetes« Platin Wasserstoffsuperoxyd nicht mehr zu zersetzen vermag, zu verwerten. Hierzu ist zu bemerken, daß man bezüglich der allerdings sehr merkwürdigen Erscheinung der »Zinnpest« zunächst untersuchen muß, worum es sich eigentlich handelt, bevor man von einer »Erkrankung« im Sinne der Pathologie spricht. Warum das »überpolte« Kupfer (d. h. solches Kupfer, das durch zu langes Umrühren im geschmolzenen Zustand Kupferoxyd enthält und dadurch spröder ist als nicht CuO-haltiges) als »krank« bezeichnet werden soll, ist nicht verständlich. Krank ist doch wohl nicht synonym mit »unrein«. Noch weniger stichhaltig ist das Beispiel vom Platin. Zum Schluß geht Verf. dazu über, in der anorganischen Welt auch »Gedächtnisvorgänge« nachzuweisen. Als solche faßt er die »Hysteresis« des Eisens auf! — Ref. muß wohl doch annehmen, daß hier mehr als sonst üblich »der Wunsch der Vater des Gedankens« gewesen ist, wenngleich nicht verkannt werden soll, daß sich mancherlei Analogien zwischen organischer und anorganischer Welt beibringen lassen. Besonders gilt das für die »flüssigen Kristalle«. Verf. würde wohl auf weniger Widerspruch stoßen, wenn er sich in dem Bestreben, die Grenze zwischen organischer und anorganischer Welt aufzuheben, darauf beschränkt hätte, auf die Analogien zwischen den »flüssigen Kristallen« und Kleinlebewesen hinzuweisen, was freilich schon durch Lehmann (11) selbst geschehen ist. **v. Kemnitz** (München).

Alice M. Boring and Raymond Pearl. The odd chromosome in the spermatogenesis of the domestic chicken. In: Journ. of Exper. Zool. Vol. XVI. Nr. 1. p. 53—84 (with 6 Plates). 1914.

Die Angaben Guyers (09) über das Vorhandensein eines unpaaren X-Chromosoms in der Spermatogenese der Hühner sind unrichtig! Das ist in dürren Worten das Resultat der ungemein mühseligen Untersuchung, der sich die beiden Autoren unterzogen haben. Man kann wohl sagen, daß nach den Angaben und Zeichnungen der Autoren die Hühner so ziemlich das ungeeignetste Objekt zum Studium der Geschlechtszellen sind, das man sich denken kann. Die vorliegende Untersuchung wurde bereits 1907 von Surface und Paerl begonnen, von Boring fortgesetzt, 1910—1912 von Stevens weiter- und schließlich von Boring und Pearl zu Ende geführt! Es läßt sich zwar nicht leugnen, daß in einigen Fällen Spermatocyten gefunden wurden, die den von Guyer beschriebenen Körper enthielten. Um ein X-Chromosom handelt es sich aber keinesfalls, wie vor allem eine genaue statistische Untersuchung an im ganzen 1003 Spermatocyten lehrt! Von diesen enthielten im ganzen nur etwa 12% Spermatocyten I. Ordnung und etwa 3% Spermatocyten II. Ordnung den Körper. Im übrigen ist der Körper auch sowohl in Form, als auch

Größe und Zahl so variabel, daß es sich nicht um ein X-Chromosom handeln kann. Vermutlich sind die wenigen Fälle, wo der Körper überhaupt sicher zu beobachten ist, so zu erklären, daß es sich um ein oder mehrere Autosomen handelt, die den Anschluß an die übrigen noch nicht erreicht, bzw. (in der Anaphase) schon wieder aufgegeben haben. Eine genaue Zählung der einzelnen Chromosomen ist überhaupt nicht vorzunehmen, da sie fast in allen Stadien, bei Anwendung der verschiedensten Technik, so miteinander verklumpt sind, daß nicht einmal eine halbwegs sichere Schätzung vorgenommen werden kann. — Da durch eine sehr große Zahl mendelistischer Untersuchungen sicher gestellt worden ist, daß bei Hühnern das Weibchen bezüglich des Geschlechts und der geschlechtsbegrenzten Merkmale heterozygot, das Männchen dagegen homozygot ist, liegt jetzt nicht mehr der geringste Grund vor, auf Grund von cytologischen Untersuchungen das Gegenteil anzunehmen.

v. Kemnitz (München).

Charles Packard. The effect of radium radiations on the fertilization of *Nereis*. In: Journ. of Exper. Zool. Vol. XVI. Nr. 1. p. 85—130 (with 3 Plates).

Die vorliegenden Bestrahlungsversuche an den Geschlechtszellen von *Nereis* wurden mit 4 mg des reinen Bromids in vier verschiedenen Richtungen vorgenommen, nämlich: 1. normale Eier × bestrahlte Spermien, 2. bestrahlte Eier × normale Spermien, 3. normal befruchtete und dann bestrahlte Eier und 4. Bestrahlung der Eier vor und nach der Befruchtung mit normalem Sperma. — Zu 1.: Die bestrahlten Spermien verhalten sich verschieden. Entweder können sie überhaupt nicht mehr regulär ins Ei eindringen, sondern sich nur außen anheften. Dann nimmt das Ei einen Anlauf zu parthenogenetischer Entwicklung, und zwar ohne Strahlung, kommt aber nicht über die erste Furchungsspindel hinaus (im Gegensatz zu Seeigeleiern [G. Hertwig 12]). Oder das Spermium dringt zwar ein und kann nun entweder mit dem Eikern verschmelzen, worauf regelrechte Furchung eintritt, oder aber der Spermakern entwickelt sich innerhalb des Eiplasmas nicht und das Ei geht zugrunde. Falls es nun zur Furchung kommt, so zeigen sich zunächst keine Anomalien. Diese treten erst bei der Bildung der Wimperkränze und des Pigments auf. Letzteres wird überhaupt nicht gebildet, erstere zeigen eine Reihe von Abnormitäten. Auf diesem Stadium bleiben dann die Larven meist stehen. Genau die gleichen Anomalien lassen sich aber auch durch einfache Pressung der Eier unter einem Deckglas erreichen! Es handelt sich also sicher nicht um eine »spezifische« Schädigung des Chromatins. Noch deutlicher wird dies Ergebnis bei der folgenden Versuchsreihe (2): Bei Eiern, die vor der Befruchtung bestrahlt wurden, wird nämlich die für normale Befruchtung charakteristische Rindenschicht nicht ausgebildet, die Folge dieser rein plasmatischen Schädigung ist eine ganz irreguläre Richtungskörperbildung, die aber weniger die durchaus normal erscheinenden Chromosomen als die achromatische Substanz betrifft. Furchungsmitosen wurden in solchen Eiern nicht beobachtet, wohl aber Protoplasmateilungen. Die Versuchsreihen 3 und 4 zeigen ähnliche, meist noch verstärkte Wirkungen als 1 und 2. Überall aber zeigt sich deutlich, daß sowohl Kern als Plasma durch die Bestrahlung geschädigt werden (gegen O. G. und P. Hertwig), vermutlich in der Weise, daß autolytische Enzyme aktiviert werden, die nunmehr Kern und Plasma angreifen. — **v. Kemnitz** (München).

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

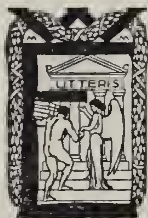


ZWÖLFTER BAND

ERSTES HEFT

MIT 11 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 20. JANUAR 1914



LEIPZIG UND BERLIN
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1914

Preis: M. 21.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt**, Zoologisches Institut, **München**, Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

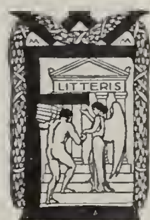
VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



ZWÖLFTER BAND
ZWEITES HEFT
MIT 13 TEXTFIGUREN UND 11 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 17. FEBRUAR 1914



LEIPZIG UND BERLIN
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1914

Preis: M. 17.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt**, Zoologisches Institut, **München**, Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

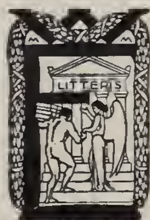
VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



ZWÖLFTER BAND
DRITTES HEFT
MIT 21 TEXTFIGUREN UND 12 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 24. MÄRZ 1914



LEIPZIG UND BERLIN
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1914

Preis: M. 21.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



ZWÖLFTER BAND
VIERTES HEFT
MIT 7 TEXTFIGUREN UND 10 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 26. MAI 1914



LEIPZIG UND BERLIN
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1914

Preis: M. 20.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Inhalt des 4. Heftes.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

Inhalt des 3. Heftes.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

Inhalt des 2. Heftes.

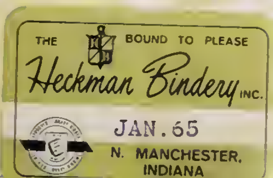
In diesem Hefte befinden sich ein Prospekt der Verlagsbuchhandlung B. G. Teubner in Leipzig über »Kultur der Gegenwart«, sowie der Anzeiger No. 1 des Antiquariats von Wilhelm Engelmann in Berlin.

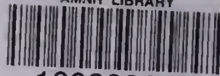
Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

Inhalt des 1. Heftes.

Diesem Heft ist der Verlagsbericht 1913 der Verlagsbuchhandlung W[illegible]lhelm Engelmann in Leipzig und Berlin beigefügt.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig


THE
BOUND TO PLEASE
Heckman Bindery INC.
JAN.65
N. MANCHESTER,
INDIANA


AMNH LIBRARY
100229682